



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
EXTENSIÓN LA MANÁ

CARRERA DE AGROINDUSTRIA

PROYECTO DE TITULACIÓN

"DESARROLLO DE UNA BEBIDA FERMENTADA CON CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y COMPUESTOS BIOACTIVOS A BASE DE KÉFIR DE AGUA Y CÁSCARAS DE CAFÉ ROBUSTA (*Coffea Canephora*) "

Proyecto de investigación presentado previo a la obtención del
Título de Ingeniero/a Agroindustrial

AUTORES

Caluguillin Tabango Cristian Joel

Lema Llumipanta Joselyn Jajaira

TUTOR

Casco Toapanta Marjorie Gissela

LA MANÁ - ECUADOR

MARZO 2026

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Caluguillin Tabango Cristian Joel, con cédula de ciudadanía No. 1754575544, Lema Llumipanta Joselyn Jajaira, con cédula de ciudadanía No.1850751346 declaramos ser autores del presente **PROYECTO DE INVESTIGACIÓN: “DESARROLLO DE UNA BEBIDA FERMENTADA CON CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y COMPUESTOS BIOACTIVOS A BASE DE KÉFIR DE AGUA Y CÁSCARAS DE CAFÉ ROBUSTA (*Coffea canephora*)”**, siendo Ing. Marjorie Gissela Casco Toapanta M.Sc., Tutor del presente trabajo; y, eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además, certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

La Maná, febrero 12 del 2026



Caluguillin Tabango Cristian Joel

CC. 1754575544



Lema Llumipanta Joselyn Jajaira

CC. 1850751346

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte **CALUGUILLIN TABANGO CRISTIAN JOEL**, identificado con cédula de ciudadanía No. **1754575544** de estado civil soltero , a quien en lo sucesivo se denominará **EL CEDENTE**; y, de otra parte, la Doctora Idalia Eleonora Pacheco Tigselema, en calidad de Rectora, y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez, Barrio El Ejido, Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA. - **EL CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de Agroindustria, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado **“DESARROLLO DE UNA BEBIDA FERMENTADA CON CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y COMPUESTOS BIOACTIVOS A BASE DE KÉFIR DE AGUA Y CÁSCARAS DE CAFÉ ROBUSTA (Coffea canephora)”**, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad; y, las características que a continuación se detallan:

Historial Académico

Inicio de la carrera: Abril 2022 – Agosto 2022

Finalización de la carrera: Octubre 2025 – Marzo 2026

Aprobación en Consejo Directivo: 12 de marzo del 2026

Tutor: Ing. Marjorie Gissela Casco Toapanta M.Sc.

Tema: **“DESARROLLO DE UNA BEBIDA FERMENTADA CON CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y COMPUESTOS BIOACTIVOS A BASE DE KÉFIR DE AGUA Y CÁSCARAS DE CAFÉ ROBUSTA (Coffea canephora)”**

CLÁUSULA SEGUNDA. - **LA CESIONARIA** es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

CLÁUSULA TERCERA. - Por el presente contrato, **EL CEDENTE** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

CLÁUSULA CUARTA. - **OBJETO DEL CONTRATO:** Por el presente contrato **EL CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

- a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- b) La publicación del trabajo de grado.
- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.

- d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.
- e) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

CLÁUSULA QUINTA. - El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **EL CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

CLÁUSULA SEXTA. - El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

CLÁUSULA SÉPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD. - Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **EL CEDENTE** podrá utilizarla.

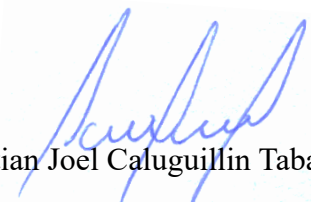
CLÁUSULA OCTAVA. - LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS. - **LA CESIONARIA** podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **EL CEDENTE** en forma escrita.

CLÁUSULA NOVENA. - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en la cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

CLÁUSULA DÉCIMA. - En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

CLÁUSULA UNDÉCIMA. - Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 12 días del mes de Marzo del 2026.


Cristian Joel Caluguillin Tabango
EL CEDENTE

Dra. Idalia Pacheco Tigselema, Ph.D.
LA CESIONARIA

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte **LEMA LLUMIPANTA JOSELYN JAJAIRA**, identificado con cédula de ciudadanía No. **1850751346** de estado civil soltera, a quien en lo sucesivo se denominará **LA CEDENTE**; y, de otra parte, la Doctora Idalia Eleonora Pacheco Tigselema, en calidad de Rectora, y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez, Barrio El Ejido, Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA. - **LA CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de Agroindustria, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado **“DESARROLLO DE UNA BEBIDA FERMENTADA CON CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y COMPUESTOS BIOACTIVOS A BASE DE KÉFIR DE AGUA Y CÁSCARAS DE CAFÉ ROBUSTA (Coffea canephora)”**, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad; y, las características que a continuación se detallan:

Historial Académico

Inicio de la carrera: Abril 2022 – Agosto 2022

Finalización de la carrera: Octubre 2025 – Marzo 2026

Aprobación en Consejo Directivo: 12 de marzo del 2026

Tutor: Ing. Marjorie Gissela Casco Toapanta M.Sc.

Tema: **“DESARROLLO DE UNA BEBIDA FERMENTADA CON CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y COMPUESTOS BIOACTIVOS A BASE DE KÉFIR DE AGUA Y CÁSCARAS DE CAFÉ ROBUSTA (Coffea canephora)”**

CLÁUSULA SEGUNDA. - **LA CESIONARIA** es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

CLÁUSULA TERCERA. - Por el presente contrato, **LA CEDENTE** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

CLÁUSULA CUARTA. - **OBJETO DEL CONTRATO:** Por el presente contrato **LA CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

- f) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- g) La publicación del trabajo de grado.
- h) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.

- i) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.
- j) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

CLÁUSULA QUINTA. - El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **LA CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

CLÁUSULA SEXTA. - El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

CLÁUSULA SÉPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD. - Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **EL CEDENTE** podrá utilizarla.

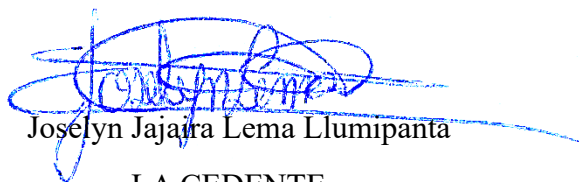
CLÁUSULA OCTAVA. - LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS. - **LA CESIONARIA** podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **LA CEDENTE** en forma escrita.

CLÁUSULA NOVENA. - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en la cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

CLÁUSULA DÉCIMA. - En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

CLÁUSULA UNDÉCIMA. - Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 12 días del mes de Marzo del 2026.


Josélyn Jajaira Lema Llumpanta
LA CEDENTE

Dra. Idalia Pacheco Tigselema, Ph.D.
LA CESIONARIA

AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tutor del Proyecto de Investigación sobre el título:

“DESARROLLO DE UNA BEBIDA FERMENTADA CON CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y COMPUESTOS BIOACTIVOS A BASE DE KÉFIR DE AGUA Y CÁSCARAS DE CAFÉ ROBUSTA (*Coffea canephora*)”, de Caluguillin Tabango Cristian Joel; Lema Llumipanta Joselyn Jajaira de la carrera de agroindustria, considero que dicho Informe Investigativo es merecedor del aval de aprobación al cumplir las normas técnicas, traducción y formatos previstos, así como también ha incorporado las observaciones y recomendaciones propuestas en la pre-defensa.

La Maná, 12 de marzo del 2026

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Marjorie Gissela Casco Toapanta', is written over a circular stamp or seal.

Marjorie Gissela Casco Toapanta

C.C: 0502877525

TUTORA

AVAL DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN

En calidad de Tribunal de Lectores, aprueban el presente informe de Investigación de acuerdo a las diapositivas reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi, y, por la Extensión La Maná, Carrera Agroindustria; por cuanto los postulantes: Caluguillin Tabango Cristian Joel; Lema Llumipanta Joselyn Jajaira, con título de proyecto de investigación: **“DESARROLLO DE UNA BEBIDA FERMENTADA CON CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y COMPUESTOS BIOACTIVOS A BASE DE KÉFIR DE AGUA Y CÁSCARA DE CAFÉ ROBUSTA (*Coffea canephora*)”**, ha considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de sustentación del trabajo de titulación.

Por lo antes expuesto, se autoriza grabar los archivos correspondientes en un CD, según la normativa institucional.

La Maná, 12 de marzo del 2026

Para consistencia firman:

Gavilán Buñay Tatiana Carolina

C.C: 1600398190

LECTOR 1 (PRESIDENTE)

Carrera Borja Whashington Xavier

C.C: 0502443626

LECTOR 2 (MIEMBRO)

Guzmán Acán Fabricio Armando

C.C: 0603684788

LECTOR 3 (SECRETARIO)

AGRADECIMIENTO

Expresamos nuestro más sincero agradecimiento a nuestra tutora de tesis Ing. Marjorie Casco por su valiosa orientación, comprensión y acompañamiento constante y durante el desarrollo de este trabajo de investigación. Sus conocimientos, observaciones y sugerencias fueron fundamentales para fortalecer el contenido y cumplir con los objetivos planteados. De igual manera extendemos nuestros agradecimientos a los docentes de la carrera, quienes a lo largo de nuestra formación académica compartieron sus saberes y experiencias contribuyendo a nuestro crecimiento profesional y personal. A la Universidad Técnica de Cotopaxi por ser nuestro segundo hogar y brindarnos los recursos, herramientas y espacios necesarios para una formación integral. Este trabajo representa el esfuerzo y aprendizaje adquirida en nuestra etapa universitaria.

Cristian

Joselyn

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis padres, Cristian Caluguillin y Hortencia Tabango, a mis hermanos, quienes han sido mi pilar fundamental su amor incondicional y esfuerzo son la fortaleza que me permitió culminar mis estudios. De manera muy especial agradezco a Álvaro Tabango una gran persona que siempre con palabras de aliento me acompañó en muchas etapas de mi vida. Este logro no es solo mío, es también de toda mi familia quienes son mi fuerza y mayor motivación para nunca rendirme.

Caluguillin Cristian

DEDICATORIA

A mi madre Piedad y a mi hermano Alexander, por ser mi pilar fundamental a lo largo de mis estudios brindándome amor, apoyo incondicional y esfuerzo constante que ha sido mi mayor fortaleza para seguir adelante. A mi familia materna por estar en cada etapa de mi vida y ser mi compañía en momentos difíciles.

A Cristian, por su paciencia, comprensión y apoyo en todo momento. A cada uno de ustedes por que han sido parte de este proceso, este logro es mío como de ustedes, gracias por siempre creer en mí.

Lema Joselyn

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

EXTENSIÓN LA MANÁ

TITULO: “DESARROLLO DE UNA BEBIDA FERMENTADA CON CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y COMPUESTOS BIOACTIVOS A BASE DE KÉFIR DE AGUA Y CÁSCARAS DE CAFÉ ROBUSTA (*Coffea canephora*)”

Autores:

Caluguillin Tabango Cristian Joel

Lema Llumipanta Joselyn Jajaira

RESUMEN

En el presente estudio abordamos la valorización agroindustrial de la cáscara de café (*Coffea canephora*) mediante el desarrollo de una bebida probiótica fermentada con búlgaros de agua. Bajo un diseño experimental controlado, evaluamos la cinética de fermentación combinando tres variedades, Napopayamino, Ecuobusta y Conilon con dos fuentes de carbono (azúcar y panela). Los datos obtenidos evidenciaron que el proceso alcanza una estabilización metabólica óptima durante el almacenamiento a 4 °C, etapa en la cual las formulaciones con panela redujeron su pH hasta 3.28. Comprobando que esta acidificación natural actuó como una barrera para garantizar la inocuidad del producto, registrando una ausencia total de *Escherichia coli*, mientras se mantuvo una viabilidad celular de hasta 2.7×10^4 UFC/mL de microorganismos simbióticos. A nivel fitoquímico, la variedad Napopayamino presentó la mayor retención de compuestos bioactivos, con datos de 19.94 mg GAE/mL de polifenoles totales y una capacidad antioxidante del 49.33%, confirmando que las condiciones de la fermentación y refrigerado minimizan la degradación oxidativa. Finalmente, el análisis sensorial indicó que la panela aporta una mayor concentración mineral mientras que el azúcar enmascaró la astringencia de la bebida, logrando así mayor aceptabilidad general. En conjunto, esta investigación valida un protocolo biotecnológico seguro y escalable, proporcionando un modelo aplicado de economía circular para la industria de alimentos funcionales.

Palabras clave: *Coffea canephora*, búlgaros de agua, fermentación, polifenoles, capacidad antioxidante, economía circular.

TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI

LA MANA EXTENSION

TITLE: “DEVELOPMENT OF FERMENTED BEVERAGE WITH ANTIOXIDANT CAPACITY AND BIOACTIVE COMPOUNDS BASED ON WATER KEFIR AND ROBUSTA COFFEE HUSKS (*Coffea canephora*)”

Authors:

Caluguillin Tabango Cristian Joel

Lema Llumipanta Joselyn Jajaira

ABSTRACT

In the present study, we addressed the agro-industrial valorization of coffee husk (*Coffea canephora*) through the development of a probiotic fermented beverage using water kefir grains. Under a controlled experimental design, the fermentation kinetics were evaluated by combining three varieties Napopayamino, Ecurobusta, and Conilon with two carbon sources sugar and panela. The obtained data showed that the process reached optimal metabolic stabilization during storage at 4 °C, a stage in which the formulations with panela reduced their pH to 3.28. This natural acidification acted as a barrier to ensure product safety, registering a total absence of *Escherichia coli*, while maintaining a cell viability of up to 2.7×10^4 CFU/mL of symbiotic microorganisms. At the phytochemical level, the Napopayamino variety showed the highest retention of bioactive compounds, with values of 19.94 mg GAE/mL of total polyphenols and an antioxidant capacity of 49.33%, confirming that fermentation and refrigeration conditions minimize oxidative degradation. Finally, the sensory analysis indicated that panela contributes a higher mineral concentration, while sucrose functioned as a substrate that helped mask the astringency of the beverage, thereby achieving greater overall acceptability. Overall, this research validates a safe and scalable biotechnological protocol, providing an applied model for a circular economy in the functional food industry.

Keywords: *Coffea canephora*, water kefir grains, fermentation, polyphenols, antioxidant capacity, circular economy.

ÍNDICE GENERAL

1.	INFORMACIÓN GENERAL.....	1
2.	DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO.....	2
3.	JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO	3
4.	BENEFICIARIOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	4
4.1	Beneficiarios Directos.....	4
4.2	Beneficiarios Indirectos	4
5.	PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	4
6.	OBJETIVOS	5
6.1.	Objetivo general.....	5
6.2	Objetivos específicos	5
7.	ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS	6
8.	FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	7
8.1.	Definición de kéfir de agua.....	7
8.2.	Alimentos funcionales.	7
8.3.	Probióticos	7
8.4.	Prebióticos	8
8.5.	Búlgaros.....	8
8.6.	Tipos de búlgaros.....	8
8.6.1.	Búlgaros de Leche	8
8.6.2.	Búlgaros de Agua.....	9

8.7.	Composición física de gránulos de búlgaros	10
8.8.	Composición microbiológica de gránulos de búlgaros.....	10
8.9.	Composición nutricional del kéfir	10
8.10.	Endulzantes	11
8.11.	Tipos de endulzantes.....	11
8.11.1.	Azúcar blanca	11
8.11.2.	Panela.....	11
8.11.3.	Miel.....	11
8.12.	Café.....	12
8.13.	Varietales de <i>Coffea canephora</i>	12
8.13.1.	Napopayamino	12
8.13.2.	Conilon.....	12
8.13.3.	Ecurobusta	12
8.14.	Cáscaras de café varietales <i>Coffea canephora</i>	13
8.15.	Bebida fermentada	13
8.16.	Tipos de fermentaciones	14
8.16.1.	Fermentación acética	14
8.16.2.	Fermentación láctica	14
8.16.3.	Fermentación sumergida.....	14
8.17.	Proceso de fermentación del kéfir de agua	15
9.	HIPÓTESIS	15

9.1.	Hipótesis alternativa (H_a)	15
9.2.	Hipótesis nula (H_0)	15
10.	METODOLOGÍA	15
10.1.	Ubicación y duración del proyecto.	15
10.2.	Tipos de investigación	17
10.2.1.	Investigación científica	17
10.2.2.	Investigación experimental	17
10.2.3.	Investigación descriptiva	18
10.3.	Diseño experimental	18
10.3.1.	Factor A: Extractos de cáscaras de café.....	18
10.3.2.	Factor B: Endulzante	18
10.3.3.	Factor C: Días (Fermentación) y Semanas (Almacenamiento)	19
10.4.	Materiales y equipos	20
10.5.	Material vegetal	21
10.6.	Material Biológico	21
10.7.	Formulación y cálculos para la bebida	21
10.7.1.	Determinación de endulzantes	21
10.7.2.	Cantidad del uso del extracto.....	22
10.7.3.	Búlgaros añadidos.....	22
10.7.4.	Diagrama de flujo para la elaboración de bebida fermentada.	24
10.8.	Proceso de elaboración de la bebida fermentada	25
10.8.1.	Preparación de cascaras de café.....	25

10.8.2. Preparación de los búlgaros de agua.....	25
10.8.3. Mezclado.....	26
10.8.4. Fermentación	26
10.8.5. Filtrado.....	26
10.8.6. Envasado.....	26
10.8.7. Fermentación	27
10.8.8. Almacenado	27
10.9. Análisis bromatológicos y contenido de cafeína.....	27
10.9.1. Determinación de humedad por gravimetría (AOAC 925.10)	27
10.9.2. Determinación de cenizas por gravimetría (AOAC 923. 03)	28
10.9.3. Determinación de proteína (Kjeldahl)	28
10.9.4. Determinación de grasas (AOAC 2003. 06).....	29
10.9.5. Determinación de fibra	30
10.9.6. Cálculo de carbohidratos totales.....	30
10.9.7. Cuantificación de cafeína.....	30
10.10. Análisis fisicoquímicos, microbiológicos, sensoriales y contenido de compuestos bioactivos	31
10.10.1. Sólidos totales	31
10.10.2. Potencial hidrógeno	31
10.10.3. Acidez titulable	31
10.11. Análisis microbiológicos	32
10.11.1. <i>Escherichia coli</i> (<i>E. Coli</i>)	32
10.11.2. Coliformes totales	32

10.11.3. Hongos y levaduras.....	33
10.11.4. Mesófilos aerobios.....	33
10.12. Análisis de compuestos bioactivos.....	33
10.12.1. Polifenoles.....	33
10.12.2. Antioxidantes.....	33
10.12.3. Flavonoides.....	34
10.13. Análisis sensoriales.....	34
11. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	35
11.1. Análisis bromatológicos.....	35
11.2. Resultados análisis fisicoquímicos, microbiológicos, sensoriales y contenido de compuestos bioactivos.....	38
1.1. Evaluación fisicoquímica de los tratamientos fermentados.....	40
1.2. Análisis de compuestos bioactivos en almacenamiento.....	52
1.3. Análisis microbiológicos.....	59
1.4. Análisis sensorial.....	61
12. IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS).....	64
13. PRESUPUESTO.....	64
14. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	66
14.1. CONCLUSIONES.....	66
14.2. RECOMENDACIONES.....	67
15. BIBLIOGRAFÍA.....	68

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 : Actividades y sistemas de tareas.	6
Tabla 2 : Características nutricionales del kéfir	10
Tabla 3 : Ubicación del área de estudio.	16
Tabla 4 : Diseño experimental	19
Tabla 5 : Materia prima, materiales y equipos para la elaboración de una bebida fermentada.	20
Tabla 6 : Formula para la bebida fermentada por tratamientos.....	23
Tabla 7 : Resultados del análisis bromatológico de extracto de cáscara de café	36
Tabla 8 . ANOVA multifactorial de parámetros sólidos solubles, acidez titulable y pH en fermentación.	38
Tabla 9 . Diferencia de parámetros fisicoquímicos entre factores (A), (B) Y (C) en la fase de fermentación por prueba TUKEY.	40
Tabla 10 . Resultados de los parámetros fisicoquímicos generales durante fermentación de la bebida.	41
Tabla 11 . ANOVA multifactorial de parámetros sólidos solubles, acidez titulable y pH en almacenamiento	45
Tabla 12 . Diferencia en parámetros fisicoquímicos entre factores (A), (B) Y (C) en la fase de almacenamiento por prueba TUKEY.....	47
Tabla 13 . Resultados de los parámetros fisicoquímicos durante almacenamiento.	48
Tabla 14 . ANOVA multifactorial para determinación de compuestos bioactivos de Polifenoles, flavonoides y antioxidantes en el almacenamiento.....	52
Tabla 15 . Diferencia en compuestos bioactivos entre factores (A), (B) Y (C) en la fase de almacenamiento por prueba TUKEY.....	54

Tabla 16. Resultado de compuestos bioactivos durante el almacenamiento.....	55
Tabla 17. Perfil microbiológico promedio y validación de inocuidad durante el almacenamiento refrigerado.....	60
Tabla 18. Análisis sensorial de la bebida fermentada a los 0 días de fermentación y 28 de almacenamiento	62
Tabla 19. Presupuesto para la elaboración de la bebida.....	65

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Gránulo de búlgaros de leche	9
Figura 2: Gránulo de búlgaros de agua.	9
Figura 3: Ubicación geográfica del centro experimental Sacha Wiwa	17
Figura 4: Interpretación del comportamiento de Sólidos solubles en la fase de fermentación.....	42
Figura 5: Interpretación de comportamiento de acidez en la fase de fermentación.....	43
Figura 6: Interpretación del comportamiento de pH en la fase de fermentación.....	44
Figura 7: Interpretación de comportamiento de Sólidos solubles en la fase de almacenamiento.	49
Figura 8: Interpretación del comportamiento de acidez en la fase de almacenamiento	50
Figura 9: Interpretación del comportamiento de pH en la fase de almacenamiento.....	51
Figura 10: Interpretación del comportamiento de polifenoles en la fase de almacenamiento	57
Figura 11: Interpretación del comportamiento de antioxidantes en la fase de almacenamiento... ..	58
Figura 12: Interpretación del comportamiento de flavonoides en la fase de almacenamiento....	59
Figura 13: Interpretación de análisis sensoriales al día 0 de fermentación y 28 de almacenamiento.. ..	61

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1. Determinación de endulzante.....	21
Ecuación 2. Determinación de extracto	22
Ecuación 3. Determinación de búlgaros	22
Ecuación 4. Determinación de humedad.....	27
Ecuación 5. Determinación de cenizas	28
Ecuación 6. Determinación de % de nitrógeno.....	29
Ecuación 7. Determinación de proteína	29
Ecuación 8. Determinación de grasas	29
Ecuación 9. Determinación de fibra.....	30
Ecuación 10. Determinación de carbohidratos totales.....	30
Ecuación 11. Determinación de acidez titulable.....	32

1. INFORMACIÓN GENERAL

Título del proyecto:	Desarrollo de una bebida fermentada con capacidad antioxidante y compuestos bioactivos a base de kéfir de agua y cáscaras de café robusta (<i>Coffea canephora</i>).
Fecha de inicio:	Octubre 2025
Fecha de finalización:	Febrero 2026
Lugar de ejecución:	Laboratorio de análisis básicos Agroindustriales la Universidad Técnica de Cotopaxi.
Facultad que auspicia:	Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales
Carrera que auspicia:	Agroindustria
Proyecto de investigación:	Innovación, salud y sostenibilidad en la industria alimentaria, desarrollo de alimentos funcionales con materias primas y coproductos autóctonas y exóticos de la provincia de Cotopaxi. Caluguillin Tabango Cristian Joel
Equipo de trabajo:	Lema Llumipanta Joselyn Jajaira Marjorie Gissela Casco Toapanta Ing.
Área de conocimiento:	Ingeniería, industria y construcción
Línea de investigación:	Procesos tecnológicos, bioquímica, biomateriales, y desarrollo y seguridad alimentaria.
Sublínea de investigación:	Biocnología agroindustrial y fermentativa.

2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO.

En los últimos años la tendencia mundial se ha enfocado en el desarrollo de productos y subproductos innovadores que tienen ciertos componentes beneficios prebióticos y fitoquímicos, a los cuales se les añaden microorganismos probióticos. Esto con la finalidad de mejorar la nutrición básica y responder a pedidos positivos en los consumidores que buscan productos que transformen y tengan menor cantidad de edulcorantes y sustancias no asimilables para nuestro organismo. Dentro de estos productos están frutas o productos derivados, ya que estos nos ayudan a mejorar la digestión y por lo tanto mejorar calidad de vida.

La cáscara de café es un subproducto común de la producción de café y la mayor parte se desecha como desperdicio por lo que existe una necesidad urgente de dar un mejor enfoque para utilizarlo con fines diferentes y evitar la contaminación ambiental. Se han realizado varios intentos para valorizar la cáscara de café, incluida la producción de bioetanol, biogases, vermicompost y compost. Además, se ha utilizado como alimento para animales, harinas y té aromático (Janissen & Huynh, 2018).

El kéfir es una bebida fermentada ácido-alcohólica que se produce a partir de gránulos de búlgaros o también llamados tibicos de agua un cultivo simbiótico mesófilo que contiene *Lactobacillus spp* y ocasionalmente *gluconobacter sp*. Existen dos tipos de kéfir: el kéfir de leche que se obtiene agregando búlgaros de leche, y el kéfir azucarado que se produce con la adición de búlgaros a una solución dulce o azucarada conociendo a esta solución después de una fermentación de 12 a 24 horas como kéfir. La ventaja del kéfir azucarado es su idoneidad, para personas que buscan un nuevo enfoque al consumo de bebidas gasificadas aprovechables para el cuerpo, su viabilidad para trabajar con frutas y verduras es una alternativa para experimentar en las bebidas funcionales y probióticas siendo muy llamativa para todo tipo de consumidores (Fiorda *et al.*, 2016).

3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

Los informes de la OMS (2022), muestran que la malnutrición de los últimos años se encuentra es el auge debido al desorden alimentario que llevan las personas diariamente. Por esta razón la población exige que más microempresas y empresas ligadas a la distribución de alimentos, desarrollen para el mercado productos que aporten a la salud humana y de esta manera salir de la crisis que actualmente nos domina, debido a este pedido se desarrollan bebidas probióticas que incluyan ingredientes que hagan de ésta un alimento completo, como es el caso del kéfir de agua que varios estudios indican su viabilidad y cuan factible es el consumo del mismo, pero vale recalcar que la bebida tiene una viabilidad para llevar varios tipos de compuestos al cuerpos haciendo que estos sean mejor aprovechados por esto nace la iniciativa de agregar cáscara de distintas variedades de café como resultado de una bebida con alto contenido en antioxidantes específicos (Coronado H. *et al.*, 2015) que aporta la cáscara de café, además ofrecer una bebida energética y nutricional.

De acuerdo con la investigación se busca revalorizar los subproductos de la industria del café bajo el enfoque de la economía circular. Esto para transformar lo que tradicionalmente se considera como un desperdicio ambiental, también forman parte de una fuente de innovación y biotecnología, las cáscaras de café contienen compuestos bioactivos como fibra dietética, compuestos fenólicos y flavonoides, y su aprovechamiento para el desarrollo de productos funcionales representa una oportunidad estratégica para crear productos agroindustriales. Esta alternativa no solo mitiga el impacto ecológico de los desechos también aprovecha los subproductos para diversificar la producción de bebidas agroindustriales, esto corresponde a la creciente demanda de consumo saludable y sostenible, cerrando así el ciclo de vida del grano de café con su beneficio económico y social (Antonio *et al.*, 2021).

4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

4.1 Beneficiarios Directos

Los beneficiarios directos son los 100 estudiantes de la carrera de Agroindustrias de la Universidad Técnica de Cotopaxi, Extensión La Maná, junto con 7 docentes vinculados al área de investigación y desarrollos de alimentos que a la vez fortalecieron sus conocimientos en bebidas fermentadas con capacidad antioxidante y la revalorización de residuos agroindustriales, aplicando técnicas biotecnológicas a base de variedades de cáscara de café robusta (*Coffea canephora*).

4.2 Beneficiarios Indirectos

Para 150 estudiantes que cruzan la carrera de Agroindustria y realizan prácticas en el Centro Experimental Sacha Wiwa ubicada en la parroquia Guasaganda del Cantón La Maná, quienes se encargan del estudio e investigación, brindando un aporte al aprovechamiento de subproductos del café que usualmente se lo desecha.

5. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

A nivel mundial, el cultivo de café abarca más de 11 millones de hectáreas, generando un volumen anual que sobrepasa los 10 millones de toneladas, lo que equivale a un rendimiento estimado de una tonelada por hectárea (FAO, 2026). Dentro de este panorama, la caficultura representa un pilar económico fundamental para Ecuador, ocupando la quinta parte de su superficie agrícola a lo largo de 19 provincias. Cabe destacar que la variedad robusta (*Coffea canephora*) domina más de la mitad del mercado nacional, alcanzando una cosecha de 6227 toneladas durante el año 2023 y consolidando su relevancia agroindustrial (Jadán Sánchez *et al.*, 2024). Sin embargo, el procesamiento de este rubro presenta un desafío ambiental significativo, ya que la eficiencia en el uso del fruto es mínima. Se estima que apenas el 9.5 % de su peso seco es aprovechado, mientras que el 90.5 % restante se descarta como residuo. Específicamente, las etapas de lavado y despulpado producen subproductos subutilizados como el mucílago (17.38 %) y, de manera predominante, la cáscara, que representa el 30.81 % del peso total. (Dari *et al.*, 2025).

A través de la historia el ser humano ha identificado elementos claves para la seguridad alimentaria destacando el uso de probióticos, estos microorganismos vivos son esenciales para retener la homeostasis de organismo después del uso de fármacos que comprometen la seguridad de la microbiota intestinal. La disminución de microorganismos beneficiosos se ha visto relacionado con el desarrollo de enfermedades intestinales, trastornos metabólicos como obesidad incluyendo alteraciones del sistema inmunológico. Bajo este enfoque el kéfir aparece como fuente rica en probióticos este grupo de bacterias ácido lácticas, bacterias acéticas y levaduras al fermentarse en medios endulzados actúan como factor terapéutico que no solo mantiene la salud del tracto intestinal y a su vez fortalece las defensas naturales del huésped frente a microorganismos oportunistas (Camacho C, *et al.*, 2022).

6. OBJETIVOS

6.1. Objetivo general

Desarrollar una bebida fermentada con capacidad antioxidante y compuestos bioactivos a base de kéfir de agua y cáscaras de tres variedades de café (*Coffea Canephora*).

6.2 Objetivos específicos

- Analizar propiedades fisicoquímicas como pH, sólidos solubles y acidez titulable de la bebida fermentada.
- Realizar análisis microbiológicos de *Escherichia coli*, coliformes totales, mesófilos aerobios, hongos y levaduras a la bebida en las etapas de fermentación y almacenamiento.
- Cuantificar compuestos bioactivos como Polifenoles, flavonoides y antioxidantes en la bebida en la etapa de almacenamiento.
- Aplicar una evaluación sensorial a los 0 y 28 días de fermentación de la bebida.

7. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS

Tabla 1 : Actividades y sistemas de tareas.

Objetivos	Actividades	Resultados	Verificación
• Analizar propiedades fisicoquímicas de la bebida fermentada.	✓ Determinación de pH, sólidos solubles y acidez titulable.	✓ Registro de datos fisicoquímicos.	✓ Tabla de resultados
• Realizar análisis microbiológicos a la bebida fermentada.	✓ Recuento microbiológico de: (Hongos y Levaduras, Mesófilos aerobios, <i>E. coli.</i>)	✓ Registro de valores microbiológicos en bebidas almacenada.	✓ Fotografías y Tabla de resultados
• Cuantificar compuestos bioactivos de la bebida fermentada.	✓ Investigación de metodologías para polifenoles, flavonoides y antioxidantes.	✓ Contenido de compuestos bioactivos.	✓ Fotografías y Tabla de resultados.
• Aplicar una evaluación sensorial a los 0 y 28 días de fermentación de la bebida.	✓ Evaluación sensorial con una escala hedónica de 5 puntos.	✓ Tratamientos con mayor aceptabilidad.	✓ Hoja de evaluación sensorial y Tabla de resultados.

Elaborado por: Caluguillin & Lema, (2026)

8. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

8.1. Definición de kéfir de agua

Conocido por sus propiedades probióticas, el kéfir de agua se define como una bebida fermentada de carácter carbonatado, ligeramente espumosa y con notas frutales. Su perfil químico destaca por una elevada concentración de ácido láctico y un volumen de alcohol que generalmente no supera el 1 %. En cuanto a su elaboración tradicional, este líquido se obtiene al inocular una solución azucarada (sacarosa) con nódulos o búlgaros de agua, acompañados frecuentemente de frutas frescas o deshidratadas. Estos gránulos, de textura eminentemente gelatinosa, actúan como el cultivo biológico indispensable para desencadenar el proceso fermentativo y dar origen a la bebida. Esta bebida tiene características físicas y químicas diferentes y una composición microbiológica distinta. El kéfir agua cuyo consumo se ha incrementado recientemente tiene un enfoque potencial por la tendencia global del consumo de productos saludables, entre ellos destacan los probióticos, además los países con mayor consumo de kéfir se encuentran Estados Unidos, México y Canadá (Ruiz & Espinosa, 2024).

8.2. Alimentos funcionales.

Un alimento puede ser considerado nutritivo y funcional cuando esta significativamente demostrado que promueve de manera positiva y beneficiosa a las funciones del organismo, mejorando el estado de ánimo, el bienestar y disminuyendo riesgos de enfermedades. Además, estos alimentos desempeñan una función específica en las actividades fisiológicas de nuestro organismo, más allá de su contenido nutricional, las principales funciones de estos microorganismos son ayudar al funcionamiento del sistema cardiovascular y digestivo. De tal forma que nos proporcionan antioxidantes a nuestro organismo. Es decir, esta bebida tiene las características de frutas y verduras con relación al valor nutritivo que aportar al organismo (Fuentes *et al.*, 2015).

8.3. Probióticos

Según (Li *et al.*, 2021), describen a los probióticos como microorganismos vivos específicos que al ser ingeridos en cantidades específicas, aportan beneficios para la salud de quienes los consumen, se trata de bacterias probióticas *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. reuteri*, *L. plantarum*, *L. casei GG*; *Bifidobacterium brevis*, *B. longum*, *B. infantis*, *B. animalis* y *Streptococcus salivaris* subespecie

thermophilus que están presentes en alimentos, medicamentos o suplementos dietéticos que tienen la facilidad de ayudar al sistema digestivo.

8.4.Prebióticos

Los prebióticos son fibras que el cuerpo no puede digerir ni absorber por que sirven como alimento a los microorganismos benéficos que favorecen la digestión, estos alimentos alivian síntomas de ciertas enfermedades y se encuentran naturalmente en alimentos fermentados como yogur, chucrut, kombucha y kéfir. El uso de estos prebióticos al igual que los probióticos busca influenciar beneficiosamente en el microbiota intestinal donde los prebióticos alteran los microorganismos intestinales de esa manera incrementando el funcionamiento de bacterias beneficiosas dando con resultado la disminución de microorganismos especialmente patógenos de esa manera limitando el crecimiento de los mismos lo que permite beneficiar al cuerpo humano. (Fuentes *et al.*, 2015).

8.5.Búlgaros

Son una unión simbiótica de varios microorganismos y levaduras tradicionalmente se utilizan para la fermentación en medios azucarados, es un beneficio al ser un iniciador de fermentación en un medio acuoso, estas colonias simbióticas de bacterias como iniciadores, destacan por su potencial para mejorar la salud digestiva y ayuda a equilibrar la microbiota intestinal gracias a sus bacterias benéficas combaten la inflamación y aumenta la energía (Teijeiro *et al.*, 2025).

8.6.Tipos de búlgaros

8.6.1. Búlgaros de Leche

Los búlgaros de leche fermentan una bebida similar al yogur, pero de sabor más intenso y mayor contenido de probióticos se elabora a base de leche de vaca, cabra u oveja y búlgaros, estas son colonias de bacterias y levaduras que transforman la lactosa en ácido láctico dando como resultado una bebida ligeramente ácida y refrescante que aportan al cuerpo vitamina B, K y minerales como el calcio, contribuyendo a la salud ósea, la versión en leche destaca por su densidad y perfil nutricional (Rodríguez *et al.*, 2017).

Figura 1: *Gránulos de búlgaros de leche*



Fuente: (López, 2017).

8.6.2. Búlgaros de Agua

Los búlgaros se cultivan en una solución de sacarosa disuelta en agua enriquecida con frutas como fuente importante de probióticos, prebióticos y antioxidantes para veganos y personas intolerantes a la lactosa. A diferencia de los búlgaros de leche este no contiene lactosa, esta versión es ligeramente refrescante y puede personalizarse fácilmente con diferentes sabores para personas que buscan alternativas a bebidas lácteas (Moretti *et al.*, 2022).

Figura 2: *Gránulos de búlgaros de agua.*



Fuente: (Gulitz *et al.*, 2011).

8.7. Composición física de gránulos de búlgaros

Los gránulos de búlgaros o típicos de agua son muy pequeños que miden entre 1 a 10 milímetros. Tiene una textura gelatinosa, translúcida y muy frágil, por lo que se deshacen fácilmente si se presionan, pueden ser de color marrón o amarillo, depende de frutas y tipo de endulzante que se utilice en el medio de cultivo dentro del granulo se encuentran distintos tipos de levaduras su forma es como una coliflor son insolubles en agua (Obregón & Elizabeth, 2022).

8.8. Composición microbiológica de gránulos de búlgaros

Los búlgaros se conforman por bacterias fermentativas lácticas y levaduras, las que se encargan principalmente de fermentar y dar como objetivo la disminución del potencial hidrogeno para la estabilidad de una bebida, otros componentes microbianos del kéfir incluyen levaduras, fermentadoras de lactosa que producen etanol y CO₂, en este proceso participa levaduras no fermentadoras de lactosa y bacterias ácido acéticas en la fermentación, los granos incrementan entre un 5 %y un 7 %. Cabe destacar que la proporción de microorganismos presentes en los gránulos es diferente a la que se encuentra en la bebida ya terminada (Guamán, 2022).

8.9. Composición nutricional del kéfir

La composición del kéfir destaca por su aporte de probióticos, además ofrece proteínas con un valor altamente biológico, además de es una fuente de magnesio y vitaminas de complejo B que favorecen a la salud digestiva.

Tabla 2: Características nutricionales del kéfir

Componente valor (100g)	Azúcar (g)	Panela (g)
Carbohidratos	99.8	83.3
Sacarosa	99.7	79.4
Azúcar invertido	0.00	8.5
N total	0.00	0.08
Proteínas	0.00	0.46

Fuente: (Pozo & Castro, 2023)

8.10. Endulzantes

Los endulzantes son elementos naturales o artificiales que se añaden a los productos para proporcionar un sabor dulce donde se clasifican como endulzantes nutritivos como la sacarosa y la panela y como endulzantes no nutritivos la Stevia. Los endulzantes nutritivos contribuyen con energía de tal modo que trabajan como bases esenciales en etapas bioquímicas y modificadores de textura mientras que los endulzantes no nutritivos obtienen el dulzor deseado, pero no aportan con cargas calóricas relevantes (Varios, 2015).

8.11. Tipos de endulzantes

8.11.1. Azúcar blanca

El azúcar blanco es un carbohidrato simple de carácter refinado, extraído principalmente de la caña de azúcar. Para alcanzar su apariencia cristalina y color característico, este edulcorante atraviesa rigurosos procesos de purificación que remueven cualquier tipo de impureza. Gracias a estas propiedades fisicoquímicas, constituye uno de los ingredientes más versátiles y empleados a nivel industrial para la formulación de alimentos, productos de repostería y diversas bebidas (Avellaneda, 2023).

8.11.2. Panela

La panela constituye un edulcorante natural altamente nutritivo, cuyo proceso de elaboración consiste exclusivamente en evaporar el jugo extraído de la caña, evitando cualquier tipo de refinación por o la incorporación de sustancias químicas. Aunque sus raíces se encuentran en América Central y el Caribe, su consumo comenzó a masificarse alrededor de 1538. De acuerdo con Prada (2023), este producto recibe la denominación de azúcar no centrifugado, una característica de procesamiento que le permite conservar tanto sus azúcares naturales sacarosa, fructosa y glucosa como un aporte menor de minerales fundamentales para el organismo.

8.11.3. Miel

La miel, un endulzante natural y viscoso producido por las abejas a partir del néctar de las flores o secreciones de partes vivas de las plantas también puede ser de excreciones de insectos chupadores de plantas, las abejas recogen, transforman en el que se combinan con sustancias propias y almacenan en

panales donde se madura la miel. Las abejas obreras ingieren el néctar u otros jugos dulces provenientes de las flores a lo que las abejas añaden sustancias propias de su organismo como son las enzimas que hace que el néctar o el jugo se transforme en miel (Henrique Fonseca Veloso *et al.*, 2025)

8.12. Café

El café es un producto de alta demanda mundial, juega un rol importante en la economía ecuatoriana, es uno de los pocos países que producen dos tipos de café el Arábico y Robusta, sin embargo, la producción ha sufrido desde los años 90 que no se ha podido recuperar, los cultivos rondan las 255 ha cultivadas, el 68% corresponde a la especie *Coffea arábica* y el 32% a *Coffea canephora* (López, 2021).

8.13. Varietales de *Coffea canephora*

8.13.1. Napopayamino

El café Robusta llega a Ecuador desde Costa de Marfil en el año 1982 en la Amazonía tras veinte años de investigación se origina el café Robusta amazónico, Napopayamino. Esta variedad ha sido manejada desde el 2008, tras la investigación y validación por parte de la INIAP se logró estabilizar en el jardín clonal, quienes con dedicación y cuidado realizaron la selección del mejor grano y con procesos de tostado y molido tienen un café con una excelente aceptación sensorial que deleita los sentidos y despierta el gusto por el buen café, esta variedad se caracteriza dentro de la elite de la especie *Coffea canephora* mantiene su rendimiento debido a su genética, en cuanto a su fruto contiene mayor contenido de cafeína que los arábigos. (Barre & Barre, 2022).

8.13.2. Conilon

El café Conilon variedad robusta brasileño, es una variedad exuberante en producción y adaptada a zonas de baja altitud donde el agua y las plagas suelen limitar otros cultivos, a nivel fisicoquímico se distingue por su elevado contenido de cafeína y su comparación con el café arábigo es la resistencia que tiene a las sequías el grano se caracteriza por su valor sensorial en los procesos industriales, es altamente valorado por su mayor rendimiento en el café soluble (Vinocunga *et al.*, 2025).

8.13.3. Ecurobusta

Después de crear el primer Centro de Investigación en café robusta, en Isidro Ayora, en el sector cafetero el grano tiene rendimiento y calidad la estructura de la planta es muy densa lo que permite la facilidad

de recolección, genéticamente es la segunda variedad más extendida y producida de hecho, representa casi el 40% de la producción mundial. Tiene características sensoriales de interés como aroma y sabor. Además, se cultiva usualmente en zonas de baja altitud y esto no afecta a la producción ni el tamaño del grano que son características únicas de la variedad (Barre & Barre, 2022)

8.14. Cáscaras de café varietales *Coffea canephora*.

Dado que el café se ha convertido en el segundo producto de consumo más importante a nivel mundial. El reciclaje de estos subproductos ricos de nutrientes podría reducir la cantidad de residuos que se envían a vertederos. Además, generan productos de valor añadido como contenido de cafeína, polifenoles, flavonoides y antioxidantes, sin embargo, pueden limitar a la aplicación de varios productos. La caracterización de estos residuos de la industria del café se describe en la actualidad como el auge del aprovechamiento de coproductos del café maximizando su potencial y minimizando impactos ambientales, se concluye que no siempre se logra el aprovechamiento completo de este coproducto a pesar de que existen evidencias que respaldan su potencial. Esto debido principalmente a la falta de infraestructura. (Janissen & Huynh, 2018).

8.15. Bebida fermentada

La bebida fermentada es un procedimiento metabólico que ocurre en condiciones anaeróbicas donde microorganismos como bacterias, hongos y levaduras transforma los carbohidratos como azúcares en alcohol y ácido láctico, estos subproductos actúan como conservantes para prevenir el crecimiento de patógenos tomando en cuenta que también modifican el perfil sensorial.

El kéfir se lo consigue por una fermentación donde las bacterias probióticas saludables como levaduras se desarrollan de manera controlada esta fusión bacterias benéficas transforman la bebida natural en probiótico contribuyendo con características beneficiosas al cuerpo humano y tomando encuesta que la fermentación puede preservar los alimentos haciendo uso de energía creando condiciones inadecuadas para organismos indeseables (Laureys & De Vuyst, 2017) las industrias aprovechan la fermentación para obtener determinados productos para la industria de los yogures con la finalidad de alargar la vida útil de sus productos Lezcano (2008).

8.16. Tipos de fermentaciones

En la industria alimentaria el uso de microorganismos es utilizado para proporcionar textura y sabor en algunos productos así también, es una técnica biotecnológica que se ha utilizado alrededor de mucho tiempo para conservar y así desarrollar nuevos aromas y sabores que aumentan sus cualidades sensoriales y valores nutritivos, una de las primeras técnicas que se utilizó fue la fermentación del pan y ahora en la bebida probiótica y vinos obtenidos al final del proceso de fermentación (Vitorino & Bessa, 2017), todas poseen diferentes tipos de fermentación:

8.16.1. Fermentación acética

Este proceso se da a partir de las bacterias de género *Acetobacter*, que oxidan el alcohol etílico en ácido acético, es decir, el alcohol en vinagre. Este es un proceso aeróbico, por lo que puede deteriorar un vino expuesto a oxígeno, produciendo oxidación y por ende un vino dañado esta transformación química modifica definitivamente el perfil organoléptico del producto subiendo la acidez volátil de tal manera que borra el propio aroma frutal, por lo tanto, es esencial controlar la fermentación para que no exista crecimiento microbiano (Dalmau, 2024).

8.16.2. Fermentación láctica

Es un proceso en el que intervienen bacterias ácido lácticas, las que se encargan de transformar azúcares en sus productos de ácido láctico, ácido fórmico y etanol, brindando características sensoriales de aroma y sabor al producto final, el incremento de acidez funciona como conservante en productos fermentados ya que ayuda a que no exista proliferación de microorganismo que afectan el producto de la misma manera las sustancias aromáticas a lo largo del metabolismo donde define la identidad que le hace un producto único como el yogurt y chucrut. (Danovaro *et al.*, 2026).

8.16.3. Fermentación sumergida

El cultivo sumergido es el sistema más frecuente para obtener compuestos de interés tales como enzimas, vitales y ácidos orgánicos a partir de microorganismos se sumergen en una solución líquida con la composición nutricional exacta para su desarrollo, donde quedan suspendidos libremente. Para lograr una producción eficiente de fermentación, resulta indispensable llevar un control riguroso de los parámetros fisicoquímicos del proceso fermentativo, especialmente pH (Cruz C, *et al.*, 2021).

8.17. Proceso de fermentación del kéfir de agua

Esta etapa parte de la fermentación de los búlgaros, inicia al agregar estos microorganismos o gránulos de búlgaros a una mezcla de agua, agregando azúcar o panela, puede ser de mesa o refinada, por lo general se realiza a temperatura ambiente entre unos 21 a 25°C. La fermentación dura de 2 a 4 días usando el 6 y 30% de azúcar, el 6 a 20% p/v de gránulos de búlgaros durante este proceso, algunos microorganismos se multiplican al fermentar los azúcares y se puede apreciar un descenso de pH por la asociación al gránulo y síntesis de la sacarosa. Al final de este proceso, los gránulos de búlgaros incrementando su masa, son recuperados por filtración y el producto resultante de una bebida dulce, ligeramente alcohólica, ácida, espumosa de color amarillento y de sabor y aroma afrutado que muchos llaman kéfir y contiene bacterias y levaduras funcionales (Ruiz & Espinosa, 2024).

9. HIPÓTESIS

9.1.Hipótesis alternativa (Ha)

La fermentación con búlgaros de agua de un extracto de cáscara de tres variedades de café combinada con dos tipos de endulzante genera cambios significativos en las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas, sensoriales y contenido de compuestos bioactivos.

9.2.Hipótesis nula (Ho)

La fermentación con búlgaros de agua de un extracto de cáscara de tres variedades de café combinada con dos tipos de endulzante no genera cambios significativos en las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas, sensoriales y contenido de compuestos bioactivos.

10. METODOLOGÍA

10.1. Ubicación y duración del proyecto.

La presente investigación experimental se estructuró en dos etapas principales. La fase inicial, de carácter procedimental en campo, tuvo lugar en las instalaciones del centro experimental Sacha Wiwa, situado geográficamente en la parroquia Guasaganda del cantón La Maná. Fue en este recinto agrícola donde se llevó a cabo el trabajo con las tres variedades de café robusta (*Coffea canephora*) utilizadas en este estudio las cuales después de la recolección se despulpó en la planta industrial de alimentos, se separa el

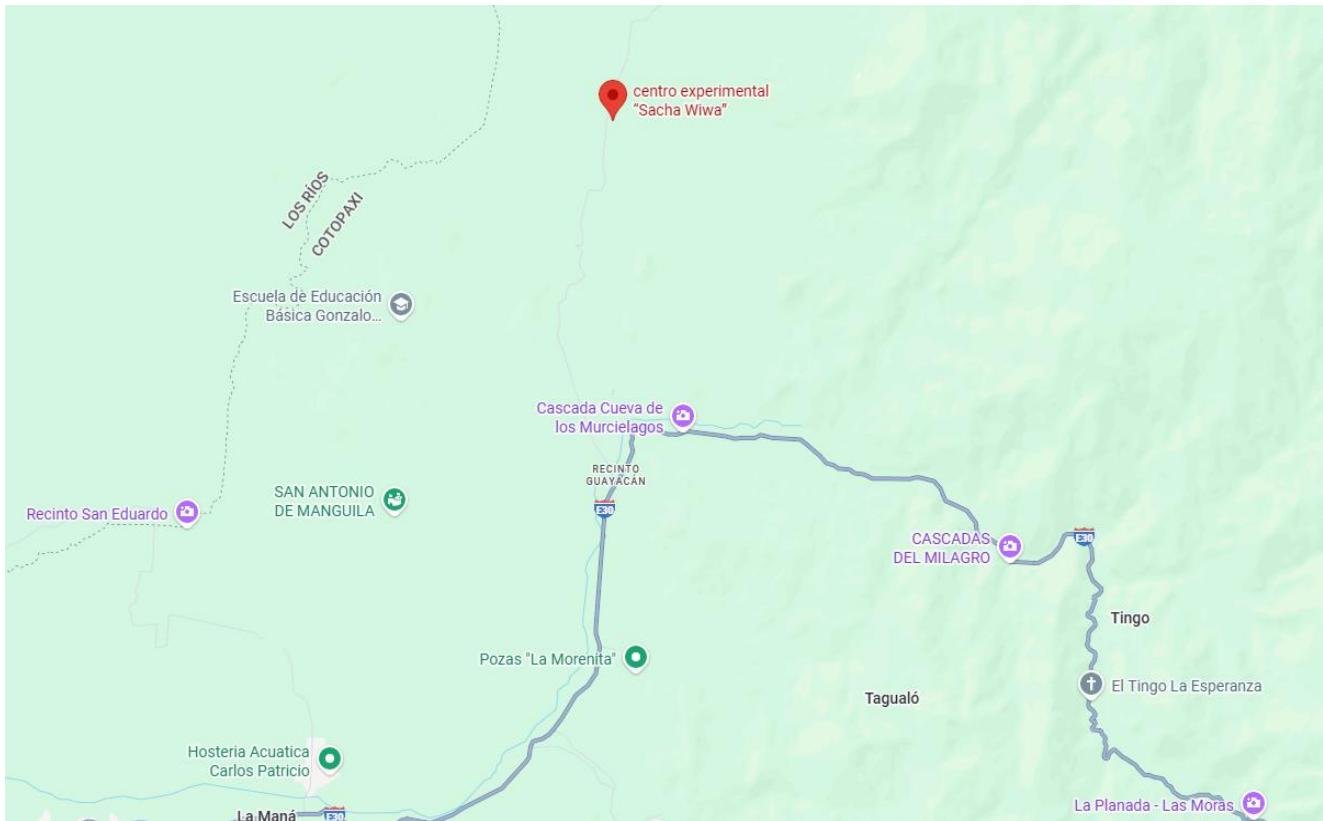
café para obtener la cáscara que posteriormente se lavó y se sometió a secado a una temperatura de $60 \pm 2^\circ\text{C}$ hasta obtener una humedad menor al $15 \pm 2\%$, que se conocerá como extracto que posteriormente se enviaría a un laboratorio externo para los análisis bromatológicos. La segunda fase se dio a nivel de planta de producción y laboratorios básico de alimentos de la carrera de Agroindustria, donde se llevó a cabo la elaboración de la bebida. Durante la fermentación se realizaron análisis fisicoquímicos, como sólidos solubles, acidez titulable y pH para observar el comportamiento de fermentación, una vez finalizada la etapa de fermentación se almacena el producto y se realizan análisis fisicoquímicos y contenido de compuestos bioactivos como polifenoles, antioxidantes y flavonoides. La ejecución de esta investigación tomó un periodo de trabajo de cuatro meses, el cual se llevó a cabo dentro de la ventana de tiempo comprendida entre octubre de 2025 y marzo de 2026. A lo largo de este lapso, se desarrollaron integralmente las dos etapas del proyecto, abarcando desde la recolección inicial de la materia prima hasta la culminación de todas las evaluaciones fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales.

Tabla 3: *Ubicación del área de estudio.*

Provincia	Cotopaxi.
Cantón	La Maná
Parroquia	El Triunfo
Altitud.	220 m.s.n.m.
Latitud	S0°56'27"
Longitud	W79°13'25"
Humedad relativa promedio	84%
Precipitación	18.5mm
Temperatura media	22°C a 33°C

Fuente:(Sarzos Erazo, 2018).

Figura 3: Ubicación geográfica del centro experimental Sacha Wiwa



Fuente: (Google Maps, 2026)

10.2. Tipos de investigación

10.2.1. Investigación científica

La investigación científica, es un método ordenado y sistemático de estudio y análisis el cual utiliza diversos métodos y procedimientos para el tipo de problema que se necesita resolver y para cada una de las partes del proceso de investigación se determina un problema al cual es necesario encontrar una respuesta y posible solución (Álvarez *et al.*, 2016).

10.2.2. Investigación experimental

Este tipo de investigación está integrada por varios conjuntos de actividades que se llevó a cabo con metodologías y técnicas que se realizan para recaudar la información y datos necesarios sobre un tema específico de investigación y dar solución al problema (Ruiz, 2018).

Este tipo de investigación parte de una planificación que se desarrolla para elaborar el producto y las cantidades apropiadas que las normas nos rigen, con la finalidad de medir y observar los defectos de todas las variables con las características finales de un producto a desarrollarse.

10.2.3. Investigación descriptiva

Este tipo de investigación nos permite observar, analizar y registrar condiciones que existen o que están presentes en el proyecto, además, nos provee de información útil sobre posibles relaciones entre variables contribuyendo a explicar lo que ocurre (Valle *et al.*, 2022).

Este estudio bajo enfoque descriptivo experimental nos caracteriza que detallemos el producto fermentado en diferentes aspectos como lo son los análisis fisicoquímicos, (sólidos solubles, potencial Hidrogeno y acidez), análisis microbiológicos (moho, levaduras, aerobios mesófilos y *E. Coli*), y los análisis sensoriales.

10.3. Diseño experimental

El estudio se estructuró mediante un Diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo factorial de (3x2+3) evaluando un total de 27 unidades experimentales (seis tratamientos y tres controles, analizados por triplicado). Con el fin de comprender el efecto de los factores de formulación, se realizó un monitoreo temporal que permitió cuantificar los cambios en las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas, sensoriales y compuestos bioactivos de la bebida durante sus etapas de fermentación y almacenamiento.

Factores de estudio.

10.3.1. Factor A: Extractos de cáscaras de café

A₁ = Extracto de Napopayamino

A₂ = Extracto de Ecuobusta

A₃ = Extracto de Conilon

10.3.2. Factor B: Endulzante

B₁ = Azúcar

B₂ = Panela

10.3.3. Factor C: Días (Fermentación) y Semanas (Almacenamiento)

C₁= Día 0; Semana 1

C₂= Día 3; Semana 2

C₃= Día 5; Semana 3

C₄= Día 7; Semana 4

Tabla 4: *Diseño experimental*

Controles	Tratamientos	Factor A (Extractos de cáscaras de café)	Factor B (Endulzantes)	Factor (C)	
				Tiempo de fermentación (Días)	Tiempo de almacenamiento (Semanas)
Napopayamino Sin Endulzante Q₁	T ₁	A ₁ Napopayamino	B ₁ Azúcar		
	T ₂	A ₁ Napopayamino	B ₂ Panela	C ₁ 0	C ₁ 1
Ecurobusta Sin Endulzante Q₂	T ₃	A ₂ Ecurobusta	B ₁ Azúcar	C ₂ 3	C ₂ 2
	T ₄	A ₂ Ecurobusta	B ₂ Panela	C ₃ 5	C ₃ 3
Conilon Sin Endulzante Q₃	T ₅	A ₃ Conilon	B ₁ Azúcar	C ₄ 7	C ₄ 4
	T ₆	A ₃ Conilon	B ₂ Panela		

Elaborado por: Caluguillin & Lema (2026)

Dónde: **T:** (Tratamientos endulzados T₁-T₆); **Q:** (Tratamientos sin endulzante Q₁-Q₃); **A:** (Extractos de cáscaras de café); **B** (Endulzantes); **C:** Días (Fermentación) y Semanas (Almacenamiento)

Para el análisis de datos obtenidos en fisicoquímicos, microbiológicos, sensoriales y contenido de compuestos bioactivos se usó el software estadístico, Statgraphics Centurión 19, versión 19.6.04 de 64 bits donde se aplicó un análisis de varianza ANOVA multifactorial para establecer diferencias estadísticas, seguido de una prueba de separación de medias mediante el método Tukey, operando con un nivel de significancia del ($p < 0.05$), se utilizó una hoja de cálculo Microsoft Excel para el cálculo de coeficiente de variación de cada uno de los parámetros.

10.4. Materiales y equipos

Tabla 5: *Materia prima, materiales y equipos para la elaboración de una bebida fermentada.*

Materia prima	Materiales	Equipos	Serie/Marca	Reactivos
Cáscara Napopayamino	Jarrones de 5 L.	Contador de colonias.	XK-97A	Agua de peptona
Cáscara Ecurobusta.	Olla de 3 L.	Balanza gramera.	OPTICA	Agar PDA.
Cáscara Conilon	Jarras de 1 L.	Autoclave	BKQ-B50L	Agar PCA.
Azúcar.	Papel filtro	Estufa de secado.	BIOBASE	DPPH.
Panela	Vaso de precipitación 1 L	Incubadora.	BOV-T30CCI	Trolox.
Búlgaros	Embudo de vidrio	Refractómetro.	OPT-i	Fenolftaleína
Agua	Botellas de vidrio	Termómetro	BOECO, Germany	Hidróxido de sodio
	Marcador para etiqueta	Potenciómetro	978338	Carbonato de sodio
	Materiales de limpieza.	Espectro UV- visible.	GonDO/EZDO	Folin Ciocalteu
	Petrifilm de <i>E. coli</i> .	Balanza analítica.	BK-S360, China	Metanol
	Toallas absorbentes	Refrigerador.		
	Tamiz de plástico		BOECO	
	Frascos de 10 ml.			
	Funda ziploc.			

Elaborado por: Caluguillin & Lema (2026)

10.5. Material vegetal

Para el desarrollo de la bebida, la obtención de la materia prima se llevó a cabo el Centro Experimental Sacha Wiwa, donde se recolecto el material vegetal correspondiente a las tres variedades de café robusta (*Coffea canephora*): Napopayamino, Ecurobusta y Conilon. El aporte desde el centro experimental ayudo al aprovechamiento del café posterior a los tratamientos de despulpado, secado y molienda.

10.6. Material Biológico

Para el desarrollo de la bebida fermentada se utilizaron gránulos de búlgaros de agua, los cuales fueron adquiridos en la ciudad de Quito, previo a su uso en el estudio los búlgaros fueron sometidos a un proceso de adaptación en soluciones de agua con panela y azúcar al 5% p/v, bajo condiciones controladas de temperatura de (22 – 25°C) durante periodos de 48 horas. Esto con la finalidad de garantizar la estabilidad de la fermentación causada por búlgaros.

10.7. Formulación y cálculos para la bebida

En la elaboración de una bebida se garantiza que las unidades experimentales cumplan con las mismas características que sus réplicas para ello se realizan cálculos de endulzantes (azúcar y panela), los extractos y los búlgaros que se determina para un volumen de tres litros.

10.7.1. Determinación de endulzantes

Para calcular el porcentaje se estableció una base de 50 g/L de sacarosa (Azúcar). Para los tratamientos con panela, se aplicó un factor de correlación basada en la equivalente de dulzor y pureza, ya que se considera que la panela tiene menor concentración de sacarosa en comparación a la azúcar refinada (R. Paul Singh, 2013).

Ecuación 1. Determinación de endulzante

$$w_2 = w_1 \times \frac{PER_1}{PER_2}$$

Donde:

W1: Azúcar original (g).

PER1: Sacarosa (%).

PER2: Sacarosa del sustituto (%).

W2: Equivalente total de endulzante.

10.7.2. Cantidad del uso del extracto

La cantidad de extracto para bebidas tipo infusión varia de entre el 5% - 15% p/v del extracto se a determinar una concentración de 6.5% p/v, en 3 litros de agua se calculó la masa del extracto mediante la Ec. 2 para aseguran la extracción de los compuestos bioactivos, que será empleado para las unidades experimentales (Pua *et al.*, 2021).

Ecuación 2. Determinación de extracto

$$M_c = \frac{C \times V_t}{100}$$

Donde:

Mc: Masa del extracto (g)

C: Concentración deseada (% p/v)

Vt: Volumen total de agua (mL)

10.7.3. Búlgaros añadidos

Para determinar la cantidad de búlgaros de agua que se usó en la bebida fermentada, el porcentaje optimo es de un 4% basándose en una proporción de peso/volumen en la cinética de la fermentación dentro del rango de 2 al 5% de gránulos de búlgaros de agua para una buena fermentación, el peso se calcula mediante la siguiente ecuación (Doran, 1998).

Ecuación 3. Determinación de búlgaros

$$M_B (g) = V_t (mL) \times \frac{\%I}{100}$$

Donde:

M_B: Masa de búlgaros (g)

V_t: Volumen total de la bebida (mL)

I%: Porcentaje de inoculación óptimo (p/v)

Tabla 6: Formula para la bebida fermentada por tratamientos

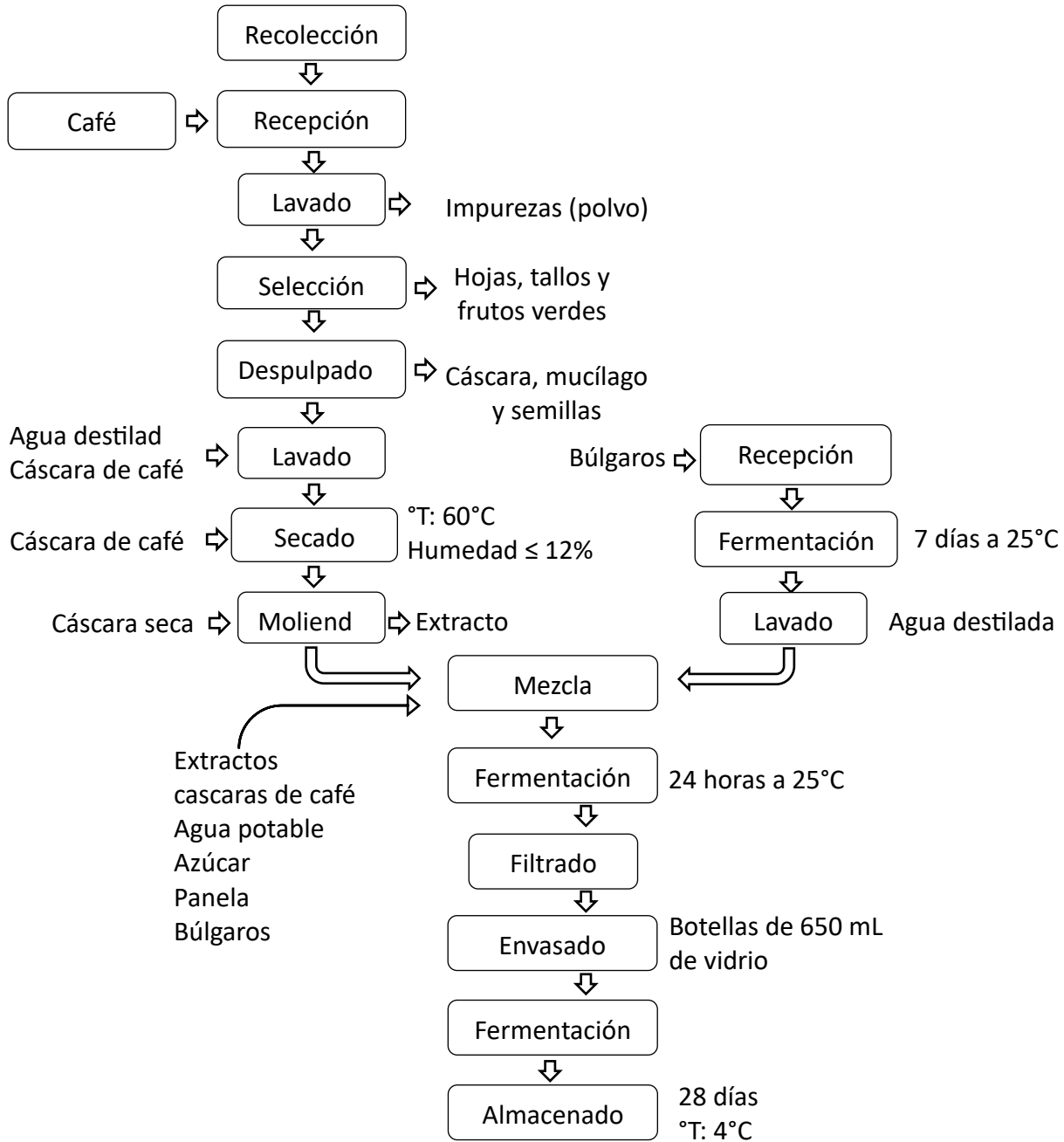
Tratamientos	Búlgaros (g)	Extracto cáscaras de café	Cantidad (g)	Endulzante	Concentración (g)	Agua (L)
T ₁		Napopayamino	195	Azúcar	150	3
T ₂		Napopayamino	195	Panela	172.41	3
Q ₁		Napopayamino	195	Sin endulzante	0	3
T ₃		Ecurobusta	195	Azúcar	150	3
T ₄	120	Ecurobusta	195	Panela	172.41	3
Q ₂		Ecurobusta	195	Sin endulzante	0	3
T ₅		Conilon	195	Azúcar	150	3
T ₆		Conilon	195	Panela	172.41	3
Q ₃		Conilon	195	Sin endulzante	0	3

Elaborado por: Caluguillin & Lema (2026)

Donde: Tratamientos endulzados (T₁-T₆); **Q:** Tratamientos control sin endulzar (Q₁-Q₃); **T₁** (Extracto Napopayamino + Azúcar 150g); **T₂** (Extracto Napopayamino + Panela 172.41g); **Q₁** (Extracto Napopayamino + Sin endulzante 0g); **T₃** (Extracto Ecurobusta + Azúcar 150g); **T₄** (Extracto Ecurobusta + Panela 172.41g); **Q₂** (Extracto Ecurobusta + Sin endulzante 0g); **T₅** (Extracto Conilon + Azúcar 150g); **T₆** (Extracto Conilon + Panela 172.41g); **Q₃** (Extracto Conilon + Sin endulzante 0g).

10.7.4. Diagrama de flujo para la elaboración de bebida fermentada.

Diagrama de elaboración de la bebida fermentada



Elaborado por: Caluguillin & Lema (2026).

10.8. Proceso de elaboración de la bebida fermentada

10.8.1. Preparación de cascaras de café

Se recolectaron los frutos maduros de café, identificando los frutos de color rojizo uniforme esta recolección selectiva se realizó a través de un control visual y manual cosechando únicamente los frutos de café que haya obtenido su capacidad fisiológica máxima de esa manera evitando cosechar granos verdes, pintones o sobre madurados para la recepción en esta fase se llevaron los frutos de café a laboratorio para colocarlas arriba de una mesa estéril para verificar la maduración general y retirar manualmente impurezas visibles como ramas, hojas y frutos en mal estado.

El lavado de los frutos de café se realizó de forma manual ubicándolos en tinas grandes para proceder a un lavado con abundante agua con el propósito de eliminar polvo, tierra e impurezas que ingresaron junto con el fruto de café y se seleccionaron de forma manual dejando únicamente los frutos que presentan buen estado y descartando frutos inmaduros, dañados y los que contengan impurezas u hongos. La fruta seleccionada fue despulpada utilizando un despulpador, posteriormente la separación de la cáscara se realizó de forma manual, toda la cáscara de café fue lavada repetidamente con agua potable para eliminar todo el exceso de mucilago posteriormente la cáscara de café se sometió a un lavado con agua destilada para evitar cualquier crecimiento microbiano y las cascaras de café se llevaron a una estufa a 60°C en hasta que su contenido de humedad sea menor al 12% de humedad y por último la cáscaras de café secas se trituraron en un molino industrial. (Arana *et al.*, 2015).

10.8.2. Preparación de los búlgaros de agua.

Los búlgaros de agua, adquiridos localmente, son sometidos a lavados rigurosos utilizando exclusivamente agua destilada, esta medida protege al consorcio de contaminaciones externas y evita la acción inhibitoria del cloro. Para reactivar su metabolismo, los gránulos entran a una fase de activación mediante fermentación durante 24 horas a 25 °C, inmersos en una solución nutritiva de sacarosa (50 g/L). Culminado este periodo de incubación, se realiza una filtración para separar los búlgaros de agua del líquido azucarado para proceder a un enjuague final con agua destilada que elimina cualquier residuo de sacarosa y deja los búlgaros listos para su uso (Chomphoosee *et al.*, 2025).

10.8.3. Mezclado

En esta etapa, se llevó a cabo la mezcla fermentable. El proceso consistió en la homogeneización del extracto acuoso de las cáscaras de café con el volumen total de agua y la fuente de carbono correspondiente a cada tratamiento (50 g/L de sacarosa refinada o 57.47 g/L de panela). Una vez que los sólidos solubles estuvieron completamente disueltos, se procedió a la inoculación añadiendo los búlgaros de agua previamente activados. Esta mezcla garantizó que el consorcio microbiano tuviera una distribución uniforme (Chomphoosee *et al.*, 2025).

10.8.4. Fermentación

Una vez realizada la mezcla, se sometió a un primer periodo de fermentación aeróbica parcial durante 24 horas, bajo una temperatura controlada de 25 °C. Esta etapa inicial funcionó como una fase de adaptación. Durante este tiempo, la biomasa de los búlgaros interactuó directamente con la hidrólisis de los azúcares complejos, para una fermentación más vigorosa y permitiendo la liberación de las células microbianas libres (levaduras y bacterias) hacia el sustrato acuoso (Chomphoosee *et al.*, 2025).

10.8.5. Filtrado

Transcurridas las 24 horas de la fermentación primaria, se separaron las fases mediante un proceso de filtración. El objetivo de esta etapa fue retirar por completo los gránulos de búlgaros de agua para evitar una sobre fermentación y una acidificación extrema del producto. El líquido resultante de este filtrado ya enriquecido con ácidos orgánicos, compuestos bioactivos y una carga de microorganismos y probióticos viables, se procedió a dar paso a la fase de fermentación en botella.

10.8.6. Envasado

En este paso se transfirió inmediatamente a botellas de vidrio de 650 mL, provistas de un sistema de cierre hermético. Una consideración técnica indispensable durante esta maniobra fue el respeto de un espacio de cabeza de aproximadamente 5 centímetros entre la superficie del líquido y la tapa. Este parámetro de seguridad y calidad es diseñado específicamente para absorber y mitigar la presión interna generada por la acumulación de dióxido de carbono (CO²), previniendo rupturas del envase y favoreciendo la efervescencia natural del producto final (Chomphoosee *et al.*, 2025).

10.8.7. Fermentación

Una vez el producto herméticamente sellado, se dio inicio a la fermentación secundaria, la cual se prolongó durante 7 días consecutivos a 25 °C. A diferencia de la fase inicial, esta etapa se desarrolló en condiciones controladas, la reducción del pH y el consumo de azúcar que genera reducción de los sólidos solubles. Para evaluar el proceso, durante este tiempo se efectuaron muestreos cada 48 horas, lo que permitió trazar la curva de comportamiento metabólico de cada varietal de cáscara de café evaluada (Chomphoosee *et al.*, 2025).

10.8.8. Almacenado

Finalmente, el proceso de elaboración y estabilización de la bebida en las botellas se sometieron a un choque térmico mediante su traslado a condiciones de refrigeración (4°C) durante un periodo de 28 días. El descenso de la temperatura provocó un frenado en la actividad fermentativa evitando la producción excesiva de alcohol o ácido acético. En estas cuatro semanas de almacenamiento, se muestreo cada 7 días para evaluar la vida útil de la bebida, verificando la viabilidad de los microorganismos en frío y la conservación estructural de los compuestos bioactivos extraídos de la cáscara

10.9. Análisis bromatológicos y contenido de cafeína del extracto

Los análisis bromatológicos se realizaron según la normativa que se especifica el Laboratorio externo de Alimentos SIALAB, estos análisis se los realizó al extracto de las tres variedades de cáscara de café previamente almacenadas en óptimas condiciones (25°C y sellado al vacío).

10.9.1. Determinación de humedad por gravimetría (AOAC 925.10)

En el método por gravimetría consiste en colocar 2 g de la muestra sobre un crisol y llevar a un horno durante 4 horas a 105 °C. Para posteriormente enfriarlo durante 20 minutos en un desecador para evitar presencia de humedad del aire se sugiere utilizar este método para extractos de frutas y verduras. La humedad se calcula a través de la siguiente fórmula.

Ecuación 4. Determinación de humedad

$$\% \text{Humedad} = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1}$$

Donde:

m1: Peso del crisol vacío (g)

m2: Peso del crisol con la muestra inicial (g)

m3: Peso del cristal con las muestras final (g)

10.9.2. Determinación de cenizas por gravimetría (AOAC 923. 03)

Se tomo 1 g de muestra seca en un crisol de porcelana para colocarlo en una placa calefactora, inicia la combustión de toda la materia orgánica. Una vez que se haya reducido el volumen de la muestra, se introduce en el interior de la mufla a 525 °C, con la finalidad de incinerar toda la materia orgánica y obtener cenizas con coloración blancas. El porcentaje se calcula a través de la siguiente ecuación:

Ecuación 5. Determinación de cenizas

$$\% \text{Cenizas} = \frac{P2 - P0}{P1 - P0} \times 100$$

Donde:

Po: Peso del crisol vacío (g)

P1: Peso del Crisol con la muestra (g)

P2: Peso del crisol con las cenizas (g)

10.9.3. Cuantificación de proteínas (Kjeldahl)

Para la determinación del contenido proteico se empleó el método de Kjeldahl. El procedimiento inició pesando 1 gramo de la muestra previamente triturada, la cual se introdujo en tubos de digestión junto con 10 mL de ácido sulfúrico concentrado y un catalizador compuesto por sales de cobre, oxido de selenio y oxido de titanio. La fase de digestión se llevó a cabo a 420 °C durante 60 minutos; una vez concluida, se dejó reposar la muestra a temperatura ambiente por 15 minutos para su enfriamiento. Posteriormente, se diluyo con 200 mL de agua destila y se transfirió al sistema de destilación, donde le adiciono una solución controlada de hidróxido de sodio 10 N. Finalmente, la cuantificación del nitrógeno se realizó por

titulación empleando ácido clorhídrico como agente valorante y azul de metileno como indicador, estableciendo el punto final al observar un viraje de color azul claro a plateado claro. El cálculo de los porcentajes se efectuó con las siguientes ecuaciones:

Ecuación 6. Determinación de % de nitrógeno

$$\% \text{Nitrógeno} = \frac{1.4 \times (V1 - V2) \times N}{P}$$

Ecuación 7. Determinación de proteína

$$\% \text{Proteína} = \% \text{Nitrógeno} \times F$$

Donde:

P: Peso de la muestra (g)

V1: Volumen del ácido clorhídrico para valorar la muestra (mL)

V2: Volumen de ácido clorhídrico para valorar el blanco (mL)

N: Normalidad de ácido clorhídrico

F: Factor de conversión (6.5)

10.9.4. Determinación de grasas (AOAC 2003. 06)

La grasa cruda del extracto se determinó por hidrólisis ácida, sometiendo la muestra a digestión con un ácido, neutralizando y secando la mezcla con 1 g de dióxido de silicio y extrayendo la grasa en el equipo soxhlet con 80 ml de éter de petróleo a una temperatura de 40 a 60 °C bajo la etapa de inmersión durante 20 minutos. La extracción en un tiempo de 40 minutos y un secado de 10 minutos y se enfrió 5 minutos. El porcentaje de grasa se calculó por diferencia de pesos.

Ecuación 8. Determinación de grasas

$$\%Grasa\ cruda = \frac{(Pf - Pi)}{Pm} \times 100$$

Donde:

Pf: Peso final de la taza con grasa (g)

Pi: Peso inicial de la taza vacía (g)

Pm: Peso de la muestra seca (g)

10.9.5. Determinación de fibra

Se tomó 1 g de la muestra y se sometió a digestión ácida y se secó el residuo, luego se incineró en una mufla a 600°C y el contenido de fibra cruda se obtuvo restando el peso de las cenizas al peso del residuo seco, expresando como porcentaje de la muestra inicial (Alyassin & Campbell, 2023).

Ecuación 9. Determinación de fibra

$$\%Fibra\ cruda\ seca = \frac{100 \times \%F.C}{\% de ms}$$

10.9.6. Cálculo de carbohidratos totales.

Para calcular la muestra (Deleg & Mora, 2023), indican que los carbohidratos totales se calculan mediante la siguiente ecuación.

Ecuación 10. Determinación de carbohidratos totales

$$\mathbf{Carbohidratos} (\%) = 100 - (\mathbf{Proteínas} + \mathbf{Grasa} + \mathbf{Ceniza} + \mathbf{Fibra} + \mathbf{Humedad})$$

10.9.7. Cuantificación de cafeína.

Se utilizaron reactivos de grado analítico junto con patrones de cafeína Sigma-Aldrich, lo que permitió establecer la curva de calibración precisa en un rango de 4 a 32 μg x mL⁻¹, se tomó 45 g de la muestra mediante una extracción sólido líquido a reflujo con agua en un equipo soxhlet durante 15 minutos. Una vez filtrado el extracto, se procedió a alcalinizarlo con carbonato de sodio para facilitar la separación del analito mediante una extracción líquido - líquido con cloroformo. La fase orgánica fue recuperada y se

deshidrató con sulfato de sodio. La lectura se realizó en un espectrofotómetro, realizando lecturas de 200 a 400 nanómetros para determinar la mayor absorbancia (Karlsen *et al.*, 2025).

10.10. Análisis fisicoquímicos, microbiológicos, sensoriales y contenido de compuestos bioactivos

Los análisis fisicoquímicos de la bebida se realizaron en los días 0, 3, 5 y 7 de la etapa de fermentación y durante el almacenamiento en la semana 1, 2, 3 y 4 completarlos a estos análisis en estas cuatro semanas se realizaron también, contenido de compuestos bioactivos y recuento de microorganismos, Todos estos se los realizaron por triplicado a cada tratamiento.

10.10.1. Sólidos totales

La cuantificación de sólidos solubles se realizó mediante el método oficial (AOAC 932.12, 2017), para la determinación se utilizó un refractómetro digital (BOECO, Germany). Previamente calibrado con agua destilada a 20 °C.

En el análisis se toma una alícuota aproximada de 2 a 3 gotas de muestra de la bebida a la de la bebida fermentada, la cual se depositó sobre el prisma del equipo, asegurando la ausencia de burbujas de aire. La lectura se registró directamente en sólidos solubles.

10.10.2. Potencial hidrógeno

La medición de pH se realizó conforme a la normativa técnica (NTE INEN 389, 2022), donde se empleó un potenciómetro calibrado de la marca (STIRRER, PL-700PC) con soluciones buffer de pH 4.0 y 7.0 la muestra se homogeneizó previamente antes del análisis y luego se procedió a sumergir el electrodo en la alícuota suficiente para cubrir el diafragma del sensor. Se esperó la estabilización de la lectura y se reportó los valores promedios de las tres repeticiones expresando el resultado con dos cifras decimales.

10.10.3. Acidez titulable

La acidez titulable se determina mediante el método volumétrico de neutralización siguiendo el método oficial (AOAC 912.15, 2019) se toma 5 mL de la muestra de la bebida fermentada y se diluyen 35 mL de agua destilada en un matraz Erlenmeyer de 250 ml, se agrega 2 gotas de solución indicadora de fenolftaleína y agregar una solución valorada de hidróxido de Sodio (NaOH) al 0,1 N, añadiendo gota a gota desde una bureta calibrada hasta observar el viraje de color rosa pálido, persistente por al menos 30 segundos se registra para el cálculo de porcentajes predominantemente como ácido láctico en la ecuación.

Ecuación 11. Determinación de acidez titulable.

$$\%Acidez = \frac{VxNxmeq}{M} x 100$$

Donde:

V: Volumen de NaH gastado (mL).

N: Normalidad de NaOH (0.1N).

meq: Ácido láctico (0.090g/meq)

M: Volumen de la muestra (mL)

10.11. Análisis microbiológicos

10.11.1. Escherichia coli (E. coli)

El recuento de microorganismos se llevó a cabo utilizando el sistema Compact Dry para *E. coli* se preparó una disolución inicial de 10^{-1} añadiendo 1 mL de la muestra a 9 mL de agua peptonada al 1% a partir de la cual se generó una segunda disolución 10^{-2} de cada disolución, se inoculo 1 mL en la zona central de las placas correspondientes, procediendo a su incubación por 24 horas a 35 °C. Terminando este periodo de incubación se realizo la lectura de las placas. Siguiendo la metodología descrita por (Nurliyana *et al.*, 2018), las colonias positivas para *E.coli* se identificaron por su color azul o rojo azulada y la visible acumulación de gas atrapado en el medio gelificado.

10.11.2. Coliformes totales

Para el análisis se utilizaron placas Compact Dry E-coli/ coliformes totales. Se tomó 1 mL de la muestra empleando una micropipeta estéril para introducirlo en una bolsa hermética junto con 9 mL de agua peptonada al 1 %, usando una pipeta de vidrio. Tras agitar la mezcla hasta obtener una concentración de 10^{-1} , se formuló la dilución de 10^{-2} . Seguidamente, se sembró 1 mL de ambas diluciones en el medio de las placas Compact Dry, las cuales permanecieron en la incubadora por 24 horas a 35 ± 2 °C. Pasado este tiempo de reposo, se realizó el conteo de colonias. Siguiendo las especificaciones del método utilizado, la presencia de Coliformes totales se observa por puntos de color rojo o azules con gas atrapado de tal manera que el gel toma un color rojo oscuro (Nurliyana *et al.*, 2018).

10.11.3. Hongos y levaduras.

El recuento de hongos y levaduras se realizó utilizando el método de vaciado en placa. En base a la metodología que dicta la (NTE INEN 1529-10, 2020), con ligeras modificaciones, en las placas previamente esterilizadas, se agregó de 15 a 20 ml de Agar Papa Dextrosa (PDA) previamente fundido a temperatura de 45° C y dejar solidificar por alrededor de 5 minutos se transfiere 1 mL de la muestra en una solución de 10^{-1} y 10^{-2} en el centro de la placa inmediatamente después del vertido se procede a homogenizar la mezcla en una superficie plana, asegurando la distribución uniforme una vez solidificado el agar se incuba a una temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ por al menos 5 días.

10.11.4. Mesófilos aerobios.

La (NTE INEN 1529-5, 2006), sobre el recuento de bacterias mesófilas aerobias se realizó por el método de vaciado en placas con ligeras modificaciones donde a las placas estériles, se le colocó de 15 a 20 ml del Agar Plate Count (PCA), previamente fundido a una temperatura de 45°C para evitar estrés térmico de los microorganismos y dejar reposar alrededor de 5 minutos, se transfiere 1 mL de la muestra previamente realizada de 10^{-1} y 10^{-2} en el centro de la caja Petri inmediatamente después del vertido se homogeneiza la mezcla mediante movimientos suaves en rotación en forma de 8 en una superficie plana, asegurando una distribución uniforme del inóculo. Una vez solidificado el agar la placa es incubada a 35 °C durante 48 horas finalizado el tiempo se procede al recuento de las colonias visibles de las placas.

10.12. Análisis de compuestos bioactivos.

10.12.1. Polifenoles.

La curva patrón se elaboró a partir de una solución madre de ácido gálico (1000 µg/mL), preparando diluciones de 0, 10, 50, 75, 100, 250, 500, 750 y 1000 ppm que fueron resguardadas de la luz. En cuanto a la extracción de los compuestos fenólicos, se homogeneizaron 500 µL de la muestra en 1000 µL de agua destilada (proporción 1:2 v/v). De esta primera dilución se tomó una alícuota de 100 µL, diluyéndola en 6 mL de agua destilada para hacerla reaccionar con 500 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu. Tras un tiempo de acción de 8 minutos en condiciones de oscuridad, se introdujeron 1500 µL de carbonato de sodio al 7.5 % y se enrasó a 10 mL con agua destilada. La mezcla terminada requirió un tiempo de incubación de dos horas a temperatura ambiente, evitando siempre la exposición a la luz.

Estas concentraciones sirvieron de base para evaluar la cantidad de polifenoles en las bebidas a través de un análisis espectrofotométrico, midiendo la absorbancia a 700 nm (Lock, 1994).

10.12.2. Antioxidantes.

Para determinación de actividad antioxidante se desarrolló mediante el método de DPPH que se inició preparando la solución del radical donde se pesó 24g de DPPH en 100 mL de metanol posteriormente se ajustó tomando alícuotas de 10mL con 45 mL de metanol hasta obtener una observancia de 1,1 máximo 1,13. Posteriormente se preparó una solución stock de Trolox de 2000 μM para ello pesar 0,0025 g en 50 mL de metanol para construir una curva de calibración con concentraciones de 200, 300, 400, 500, 600, 700 y 800 μM en matraces de 25 mL. Para la determinación final mezclar 150 μL de cada solución estándar y agregar 2,8 mL de la solución de DPPH ajustada, agitar en un vórtex y dejar reposar por 10 minutos, (Re *et al.*, 1999).

La lectura de las concentraciones se ocupó para la determinación de antioxidantes por espectrofotometría a 515 nm.

10.12.3. Flavonoides

Para la determinación de flavonoides se inició preparando metanol al 80%, acetato de potasio 1M y nitrato de aluminio al 10%. La curva de calibración se realizó disolviendo 2,17 mg de quercetina en 10 mL de metanol al 80% y tomando alícuotas de 100, 175, 350 y 700 μL a cada punto se añadió 200 μL de nitrato de aluminio aforado a 10mL y dejar en reposo por 40 minutos en oscuridad y leer a una longitud de onda de 415 nm. Posteriormente se tomó 100 μL de la muestra con 200 μL de acetato de potasio y 200 μL de nitrato de aluminio y se aforo con metanol al 80% hasta llegar al volumen de 10 mL, se dejó reposar por 40 minutos en la oscuridad (Martínez & López, 2023).

Estas concentraciones se utilizaron para determinación de flavonoides en bebidas mediante espectrofotometría a una longitud de onda de 415 nm.

10.13. Análisis sensoriales.

Se realizó un análisis sensorial de aceptación con 56 panelistas no entrenados a quienes se le asignó un número y evaluaron la bebida al día 0 de fermentación y 28 de almacenamiento con una escala hedónica de 5 puntos, los panelistas fueron estudiantes y docentes de la Universidad Técnica de Cotopaxi.

Las muestras fueron servidas en vasos desechables transparentes de 10 mL se utilizó una codificación aleatoria de 3 dígitos y la presentación se realizó de forma secuencial para minimizar el efecto del orden (Ramirez, 2012).

Los panelistas evaluaron los atributos de color, olor, sabor, aspecto y aceptabilidad aclarados por (Meullenet, 2004), la escala que se usó fue:

5: Me gusta mucho

4: Me gusta

3: Ni me gusta, ni me disgusta.

2: Me disgusta.

1: Me disgusta mucho.

11. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este apartado se expresan los resultados obtenidos en los análisis bromatológicos del extracto de cáscara de café, análisis fisicoquímicos de la bebida durante fermentación y almacenamiento, contenido de polifenoles, flavonoides, antioxidantes, recuento de microorganismos y aceptación sensorial.

11.1. Análisis bromatológicos

En la **Tabla 7** se consolida el perfil bromatológico de los tres extractos de cascara de café evaluados (Napopayamino, Ecurobusta y Conilon). Los resultados expresan los valores de tendencia central y dispersión (Media \pm Desviación Estándar), evidenciando diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$), señaladas mediante superíndices (a, b, c) tras la separación de medias por la prueba de Tukey.

En la **Tabla 7** de análisis bromatológicos de los extractos reveló que la matriz de la cáscara de café posee una composición altamente favorable tanto para su viabilidad biotecnológica como funcional. Esto se debe a la fibra cruda como el componente mayoritario en todas las muestras evaluadas, destacando la varietal E_N con una concentración del 65,90%, un valor consistente con los rangos reportados para este subproducto por (Janissen & Huynh, 2018).

Tabla 7: Resultados del análisis bromatológico de extracto de cáscara de café

Varietal cáscara de café	Código extracto	Humedad (ME±DE)	Cenizas (ME±DE)	Proteínas (ME±DE)	Grasa (ME±DE)	Fibra (ME±DE)	Carbohidratos (MD±DE)	Cafeína (ME±DE)
Napopayamino	E_N	12.8±0.12 ^a	5.30±0.06 ^b	5.95±0.07 ^a	1.24±0.04 ^a	65.9±0.17 ^c	8.81±0.09 ^a	1.14±0.01 ^c
Ecurobusta	E_E	13.4±0.12 ^b	4.21±0.06 ^a	7.83±0.07 ^b	4.14±0.04 ^b	59.3±0.17 ^a	11.1±0.09 ^c	0.85±0.01 ^a
Conilon	E_C	12.7±0.12 ^a	5.50±0.06 ^b	8.96±0.07 ^c	1.10±0.04 ^a	62.1±0.17 ^b	9.64±0.09 ^b	0.95±0.01 ^b
CV (%)		1.60	2.08	1.60	3.21	0.47	1.58	1.77

Elaborado por: Caluguillin & Lema (2026)

Donde: E_N: (Extracto de Napopayamino); E_E: (Extracto de Ecurobusta); E_C: (Extracto de Conilon); CV (%): (Coeficiente de variación); ME: (Media de mínimos cuadrados); DE: (Error estándar); a-c: Diferente letra en la misma columna indica la diferencia significativa entre los tratamientos (<0,05)

En la **Tabla 7** se evidencia la riqueza lignocelulósica aporta un doble beneficio técnico funcionalmente, permite la retención de compuestos fenólicos y fibra soluble tras el filtrado, actúa como un soporte físico que favorece la adición de los búlgaros de agua, promoviendo el desarrollo de biopelículas microbianas. Los valores de humedad de las muestras oscilaron entre 12,70% E_C y 13,40% E_E, aunque estos niveles se sitúan en valores cercanos al 12% establecido por la norma AOAC 925.10 estos fenómenos se deben a la alta higroscopicidad de la cáscara y a las condiciones climáticas húmedas del cantón La Maná, estos valores continúan considerados seguros para evitar la proliferación fúngica durante su almacenamiento hermético, tal como lo establece (Penedo, 2018).

Desde un enfoque metabólico la **Tabla 7** muestra que la fermentación depende de los nutrientes disueltos en el extracto. En este sentido, la varietal E_E destacó por presentar el mayor porcentaje de carbohidratos disponibles (11,10%), estos azúcares y almidones residuales desempeñan un rol importante y crítico al proveer de energía de activación inmediata antes de degradar compuestos más complejos (Murthy & Madhava Naidu, 2012). Este aporte energético se complementa de forma ideal con la composición de la varietal E_C, la cual presentó los niveles más altos de cenizas (5,50%) y proteína bruta (8,96%). Estos resultados coinciden con lo mencionado por (Janissen & Huynh, 2018); (Mussatto *et al.*, 2011) y representan un hallazgo tecnológico de gran relevancia, dado que el nitrógeno orgánico y los minerales aportados funcionan como nutrientes esenciales para acelerar el crecimiento de la biomasa microbiana y asegurar una rápida acidificación del medio.

Finalmente, la **Tabla 7** muestra que el análisis evidenció atributos que impactan directamente en el perfil sensorial y bioactivo de la bebida. En cuanto a la materia grasa, se detectó una variación distinta en la varietal E_E con (4,14%), superando el promedio habitual < 3% reportado por (Mussatto *et al.*, 2011). Esta característica, propia del mejoramiento genético de la varietal, puede resultar ventajoso al aportar mayor cuerpo y textura al producto final, aunque necesitará de un control estricto en el almacenamiento para evitar separación de fases, la cuantificación de cafeína máxima se presentó en la varietal E_N con un (1,14%), evidenciando diferencias estadísticas significativas frente al resto de tratamientos. Esta concentración se alinea con los rangos (0,8% - 1,13%) documentados por (Esquivel & Jiménez, 2012) para subproductos de café *robusta*, estos datos afirman que la bebida no solo posee propiedades probióticas, sino que actúa como un estimulante natural donde los alcaloides trabajan en sinergia con los polifenoles para potenciar la capacidad antioxidante del producto.

11.2. Resultados análisis fisicoquímicos, microbiológicos, sensoriales y contenido de compuestos bioactivos

En la **Tabla 8** se presentan los resultados estadísticos de los tres parámetros fisicoquímicos fundamentales monitoreados durante la fermentación: sólidos solubles, acidez titulable y pH. Esta representación matemática permite cuantificar no solo el efecto individual de los factores principales de las variedades de cáscara de café y del endulzante y los días de fermentación, también sus interacciones cruzadas. Mediante este nivel de significancia, se busca establecer con precisión qué parámetros que rigen la estabilidad, la viabilidad microbiana y la calidad final de la bebida desarrollada.

Tabla 8. ANOVA multifactorial de parámetros sólidos solubles, acidez titulable y pH en fermentación.

FV	SM	GL	CM	F- Calculada	Valor p
Sólidos Solubles					
A: Varietal	1.99	2	0.99	1078.90	*
B: Endulzante	586.76	2	293.38	316850.80	*
C: Días	0.64	3	0.215	232.37	*
AB	0.06	4	0.02	16.60	*
AC	0,35	6	0.06	64.37	*
BC	0,03	6	0.00	4.67	*
ABC	0,09	12	0.01	21.09	*
Días x Tratamiento	0.47	24	0.01	7.67	*
Error Experimental	0.07	72	0.00		
Total	590.00	107			
Acidez titulable					
A: Varietal	0.02	2	0.01	70.06	*
B: Endulzante	1.18	2	0.59	3784.17	*
C: Días	0.17	3	0.06	372.67	*
AB	0.05	4	0.01	83.47	*
AC	0.02	6	0.00	23.11	*
BC	0.13	6	0.02	139.46	*
ABC	0.02	12	0.00	9.21	*
Días x Tratamiento	0.17	24	0.01	45.25	*
Error Experimental	0.01	72	0.00		
Total	1.61	107			

Tabla 8. Continuación

Tabla 8. Continuación

	pH				
A: Varietal	2.18	2	1.09	103.90	*
B: Endulzante	0.16	2	0.08	7.80	*
C: Días	2.28	3	0.76	72.27	*
AB	0.37	4	0.09	8.71	*
AC	0.06	6	0.01	0.96	N/C
BC	0.07	6	0.01	1.11	N/C
ABC	0.19	12	0.02	1.56	N/C
Días x Tratamiento	0.33	24	0.01	1.30	N/C
Error Experimental	0.76	72	0.01		
Total	6.07	107			

Elaborado por: Caluguillín & Lema (2026)

Donde: **FV:** Fuente de Variación; **SM:** Suma de Cuadrados; **GL:** Grados de Libertad; **CM:** Cuadrado Medio; **F-Calculada:** Estadística de la prueba. Los factores **A** (Varietal), **B** (Endulzante) y **C** (Días), mientras que sus combinaciones (**AB, AC, BC, ABC**) denotan las interacciones cruzadas. En el Valor p, el asterisco (*) indica un efecto estadísticamente significativo ($p < 0.05$); por el contrario, **N/C** señala una interacción no significativa ($p > 0.05$), cuya leve variación se atribuye puramente al error experimental o residual del bioproceso.

El Análisis de Varianza (ANOVA) en la fermentación se determina por la formulación y el tiempo. En los sólidos solubles y acidez titulable, tanto los efectos principales Varietal, Endulzante y Días como sus interacciones resultaron altamente significativos ($p < 0,05$). Destaca el valor crítico del factor endulzante ($F = 316.850,80$) sobre los sólidos solubles, esto determino la naturaleza de la fuente de carbono es un parámetro importante que determina la densidad y el metabolismo del inóculo, El pH presentó un patrón distinto. Tanto que los factores individuales y las interacciones iniciales de (AB) fueron significativos, el factor C en fermentación no mostró un efecto concluyente ($p > 0,05$). Esto evidencia que el consorcio microbiano posee una capacidad reguladora. Tal como señalan (Laureys & De Vuyst, 2017) en sus estudios sobre kéfir de agua. La **Tabla 8** muestra la confiabilidad de los resultados de los Cuadrados Medios (CM) del error experimental, estos valores resultaron prácticamente nulos (0,00 a 0,01). Esta varianza mínima determina una buena aplicación metodológica en el laboratorio, asegurando que las diferencias estadísticas detectadas responden exclusivamente a los factores evaluados y no a errores de manipulación sistemática.

Tabla 9. Diferencia de parámetros fisicoquímicos entre factores (A), (B) Y (C) en la fase de fermentación por prueba TUKEY.

Parámetro	Factor A			Factor B		Factor C			
	Varietal			Endulzante		Tiempo (Días)			
	Napo	Ecu	Coni	Azúcar	Panela	0	3	5	7
Sólidos Soluble	4.11 ^c	3.87 ^b	3.79 ^a	5.59 ^c	5.55 ^b	4.02 ^c	3.97 ^b	3.85 ^a	3.84 ^a
Acidez	0.13 ^b	0.12 ^a	0.15 ^c	0.08 ^b	0.28 ^c	0.07 ^a	0.12 ^b	0.16 ^c	0.18 ^d
pH	4.06 ^b	3.83 ^a	4.17 ^a	4.02 ^a	3.97 ^a	4.23 ^c	4.08 ^b	3.89 ^a	3.87 ^a

Elaborado por: Caluguillin & Lema (2026)

Donde: Los factores A (Varietal), B (Endulzante) y C (Días); Napo:(Napopayamino); Ecu:(Ecurobusta); Coni: (Conilon)**a-d:** Diferente letra en la misma columna indica la diferencia significativa entre los tratamientos (<0,05)

La **Tabla 9** presenta un análisis comparativo de los parámetros fisicoquímicos de sólidos solubles, acidez y pH con las los factores donde la varietal corresponde a (Factor A), el tipo de endulzante (Factor B) y el tiempo de fermentación (Factor C). Se observa que el Factor B (Endulzante) genera el mayor impacto en los sólidos solubles y la acidez, destacando que la panela eleva significativamente los niveles de acidez (0.28) en comparación con el azúcar, el Factor C (Tiempo) muestra un comportamiento evidente de fermentación, evidenciada por un descenso del pH y un incremento sostenido de la acidez conforme transcurren los días.

Evaluación fisicoquímica de los tratamientos fermentados

En la **Tabla 10** se presenta el consolidadas de las variables de respuesta fundamentales de sólidos solubles, acidez Titulable y pH que corresponde a las nueve unidades experimentales. Este análisis permite el estudio de la interacción entre las diferentes varietales de extracto de cáscara de café y las fuentes de carbono añadidas azúcar o panela, comparado frente a los controles sin endulzante, garantizando que cumpla con el perfil organoléptico deseado y con la seguridad microbiológica del producto final.

Tabla 10. Resultados de los parámetros fisicoquímicos generales durante fermentación de la bebida.

Tratamientos	n	sólidos solubles (ME±DE)	Acidez Titulable (ME±DE)	pH (ME±DE)
T ₁	12	5.74±0.008 ^g	0.09±0.004 ^c	4.08±0.03 ^{cd}
T ₂	12	5.73±0.008 ^g	0.24±0.004 ^d	3.96±0.03 ^{bc}
Q ₁	12	0.86±0.008 ^c	0.06±0.004 ^b	4.13±0.03 ^d
T ₃	12	5.56±0.008 ^f	0.06±0.004 ^b	3.86±0.03 ^{ab}
T ₄	12	5.50±0.008 ^e	0.26±0.004 ^e	3.87±0.03 ^{ab}
Q ₂	12	0.55±0.008 ^b	0.03±0.004 ^a	3.77±0.03 ^a
T ₅	12	5.47±0.008 ^{de}	0.10±0.004 ^c	4.14±0.03 ^d
T ₆	12	5.43±0.008 ^d	0.33±0.004 ^f	4.09±0.03 ^{cd}
Q ₃	12	0.47±0.008 ^a	0.02±0.004 ^a	4.29±0.03 ^e
CV (%)		0.71	10.48	2.58

Elaborado por: Caluguillin & Lema (2026)

Donde: T₁: (Extracto Napopayamino + Azúcar); T₂: (Extracto Napopayamino + Panela); Q₁: (Extracto Napopayamino sin endulzante); T₃: (Extracto Ecurobusta + Azúcar); T₄: (Extracto Ecurobusta + Panela); Q₂: (Extracto Ecurobusta sin endulzante); T₅: (Extracto Conilon + Azúcar); T₆: (Extracto Conilon + Panela); Q₃: (Extracto Conilon sin endulzante); n: número de muestras; CV (%): (Coeficiente de variación); ME: (Media de mínimos cuadrados); DE: (Error estándar); a-h: Diferente letra en la misma columna indica la diferencia significativa entre los tratamientos (P<0,05).

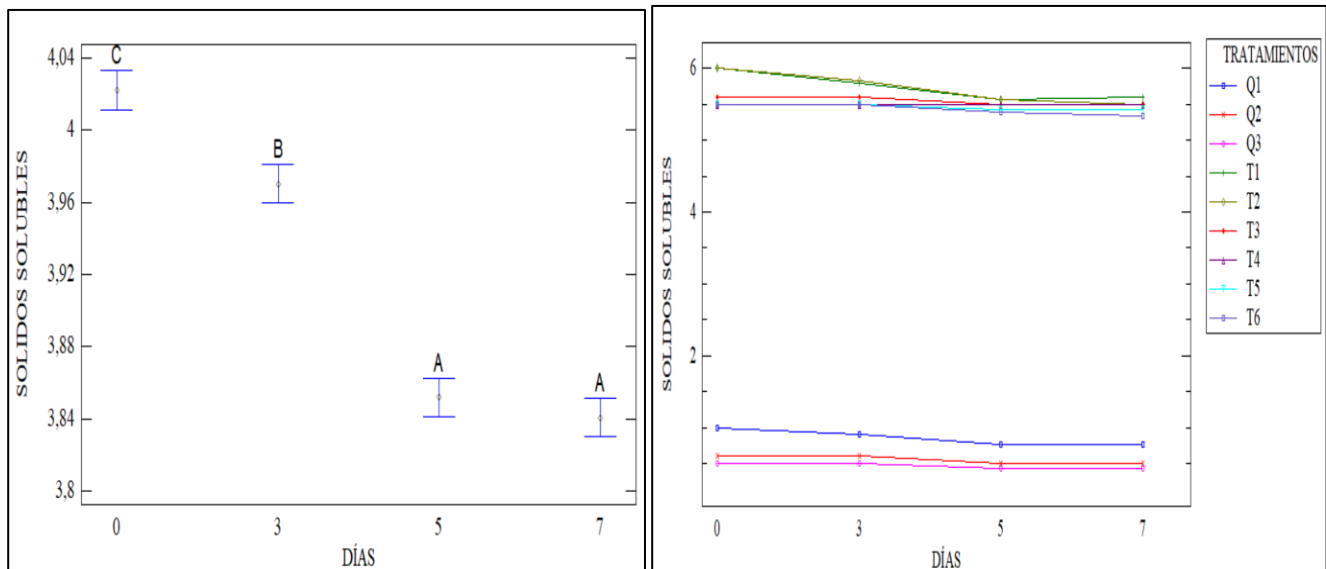
Los resultados fisicoquímicos en fermentación que muestra la **Tabla 10** evidenció que el kéfir de agua depende fundamentalmente de una fuente de carbono externa para mantenerse viable. Al observar los sólidos solubles, los tratamientos que llevaron endulzante arrojaron valores superiores. Se evidencia la caída progresiva que va desde los 5,74 sólidos solubles en el tratamiento T₁ hasta llegar a 5,43 sólidos solubles en T₆. Por otro lado, los controles Q₁, Q₂ y Q₃, tienen valores inferiores a 1 sólidos solubles, confirmando que la matriz de la cáscara por sí sola no aporta suficientes azúcares asimilables. Además, el bajo coeficiente de variación (0,71%) nos da la tranquilidad de que las mediciones en el laboratorio presento gran exactitud. La caída de los sólidos solubles en las muestras endulzadas no es más que el consorcio simbiótico metabolizando por la sacarosa. Desde un punto de vista tecnológico esto es positivo como bien explica (Randazzo *et al.*, 2016), dejar un margen de azúcares residuales al terminar el proceso el cual es clave para contrarrestar la acidez natural de la bebida y sea agradable al consumidor.

En acidez titulable se notaron diferencias estadísticas notables ($p < 0.05$), y esto se debe al tipo de endulzante que se utiliza. El T₆, endulzado con panela, incremento notablemente hasta alcanzar el pico máximo de acidez (0,33%), seguidos de el T₄ (0,26%) y T₂ (0,24%), ambos endulzados con panela. Por

otro lado, los controles reportaron cifras mínimas por debajo del 0,10%. A diferencia de los azúcares refinados, la panela es rica en minerales como potasio, calcio y magnesio. (Randazzo *et al.*, 2016), señala que estos elementos funcionan como un verdadero cofactor metabólico, acelerando drásticamente el crecimiento y actividad de las bacterias ácido lácticas presentes en los búlgaros.

En la **Tabla 10** el potencial de hidrógeno (pH) de la bebida, registros cambios entre 3,77 (Q₂) y 4,29 (Q₃). Un aspecto relevante en el comportamiento de los controles al no tener alimento disponible, los microorganismos entraron en latencia. Al no producir ácido láctico ni acético, el pH de estas muestras se quedó muy cerca de la neutralidad inicial. En cambio, los tratamientos con endulzantes cumplieron la función de bajar el pH hasta estabilizarse en una zona segura entre 3,8 y 4,1. Que la acidez descienda corresponde al comportamiento esperado durante esta etapa de fermentación. Según menciona (Fiorda *et al.*, 2016) explica que romper la barrera del 4,5 crea un ambiente hostil donde patógenos peligrosos, como *Escherichia coli*, simplemente no pueden sobrevivir, pero no fue a extremos incontrolables. Esto ocurrió gracias al reconocido "efecto buffer" o amortiguador de los ácidos clorogénicos que naturalmente posee la cáscara de café (Vandenberghe *et al.*, 2000). Esta es una ventaja técnica para nuestro producto, ya que evita una sobre fermentación y protege a los búlgaros de un agotamiento prematuro.

Figura 4: Interpretación del comportamiento de Sólidos solubles en la fase de fermentación

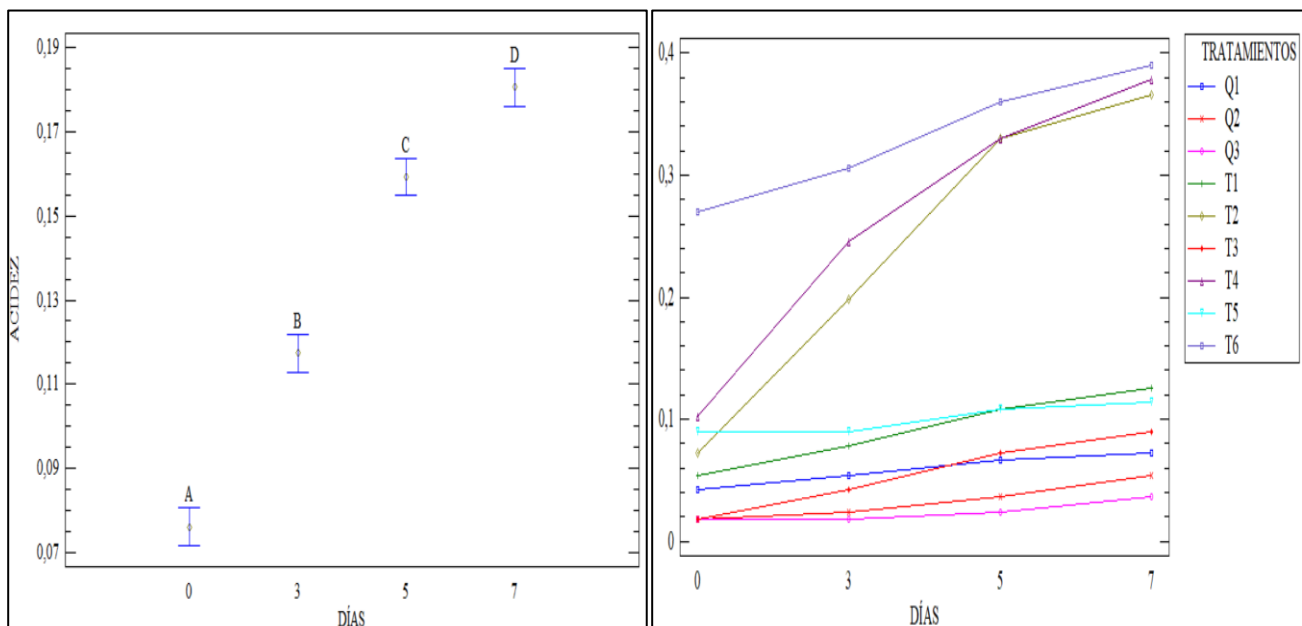


Elaborado por: Caluguillin & Lema (2026)

Donde: T₁: (Extracto Napopayamino + Azúcar); T₂: (Extracto Napopayamino + Panela); Q₁: (Extracto Napopayamino sin endulzante); T₃: (Extracto Ecurobusta + Azúcar); T₄: (Extracto Ecurobusta + Panela); Q₂: (Extracto Ecurobusta sin endulzante); T₅: (Extracto Conilon + Azúcar); T₆: (Extracto Conilon + Panela); Q₃: (Extracto Conilon sin endulzante); n: número de muestras

De acuerdo con la figura 4, los sólidos solubles indica que la totalidad de los tratamientos fermentados se han disminuido gradualmente, los tratamientos endulzados con azúcar y panela iniciaron con niveles que oscilaban entre 10 y 12 sólidos solubles lo que concierne al día 0 de fermentación. Así mismo, se evidenció una reducción notoria en los días 0 y 3 y en el día 7 manteniéndose en equilibrio promedios finales que oscilaban entre 5.0 y 5.4 sólidos solubles. Mientras que los tratamientos control evidenciaron que los valores están por debajo de 2 sólidos solubles lo que refleja que la cáscara de café tiene una cantidad baja de azúcar. El consumo de azúcares durante la fermentación se puede evidenciar en la reducción de sólidos solubles, en el transcurso de los primeros días de fermentación la acción de las bacterias del kéfir y levaduras (*Saccharomyces*) provocan una caída rápida en los valores iniciales. Según Laureys y De Vuyst (2014), menciona que en el Kéfir de agua reduce la acidez y la ingesta total de azúcares de esa manera mantiene el dulzor, en el día 7 el mecanismo se mantiene al llegar al periodo estacionario. Así mismo la cinética es ventajosa ya que previene un exceso de alcohol en un lapso corto de tiempo, (Randazzo *et al.*, 2016)

Figura 5: Interpretación de comportamiento de acidez en la fase de fermentación.

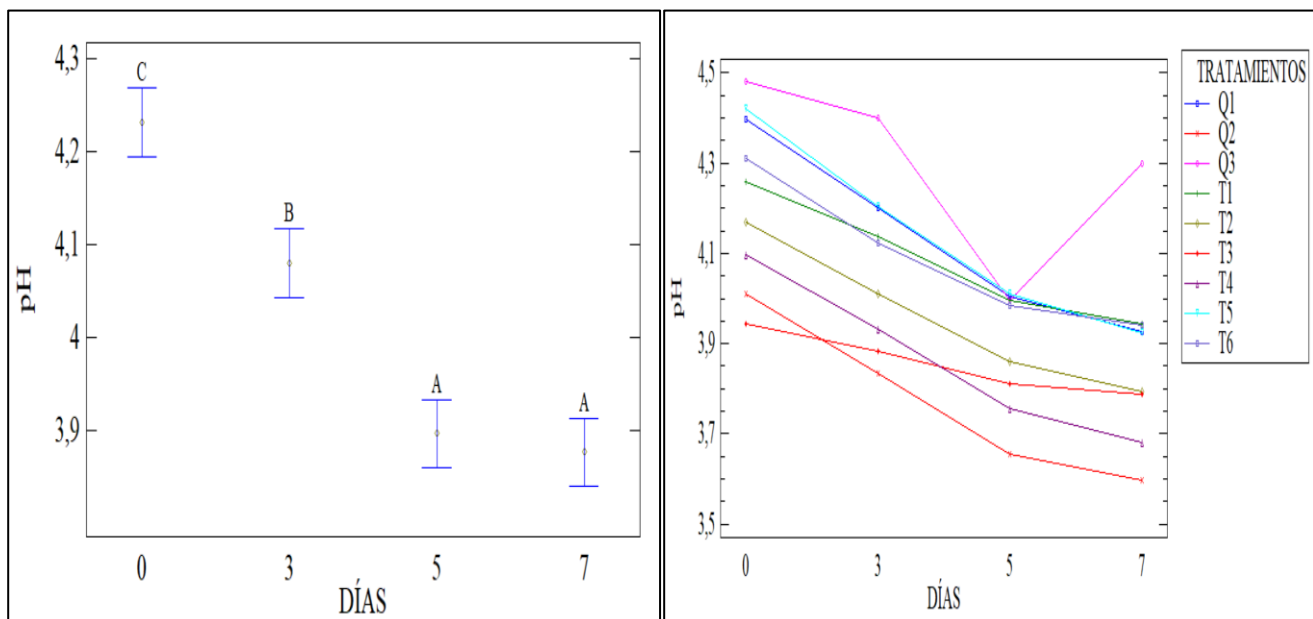


Elaborado por: Caluguillin & Lema (2026)

Donde: T₁: (Extracto Napopayamino + Azúcar); T₂: (Extracto Napopayamino + Panela); Q₁: (Extracto Napopayamino sin endulzante); T₃: (Extracto Ecuobusta + Azúcar); T₄: (Extracto Ecuobusta + Panela); Q₂: (Extracto Ecuobusta sin endulzante); T₅: (Extracto Conilon + Azúcar); T₆: (Extracto Conilon + Panela); Q₃: (Extracto Conilon sin endulzante); n: número de muestras

De acuerdo con la Figura 5, la acidez se elevó proporcionalmente al consumo de azúcares, siendo el incremento más drástico en los tres primeros días de fermentación. Es fundamental notar que a partir del día 5 y hasta el día 7, los sólidos solubles se estabilizan y el cambio es mínimo. Esto ocurre ya que el consorcio de microorganismos entra en su fase estacionaria; el descenso inicial del pH y la acumulación de ácidos orgánicos comienzan a inhibir parcialmente la actividad enzimática de las levaduras (*Saccharomyces*), relentizando significativamente el consumo de carbohidratos. Según (Puerari *et al.*, 2012) y (Salazar *et al.*, 2016), se logra la estabilización natural, ya que previene la sobre fermentación, asegurando que la bebida conserve un dulzor residual y adquiera un perfil sensorial equilibrado.

Figura 6: Interpretación del comportamiento de pH en la fase de fermentación



Elaborado por: Caluguillin & Lema (2026)

Donde: T₁: (Extracto Napopayamino + Azúcar); T₂: (Extracto Napopayamino + Panela); Q₁: (Extracto Napopayamino sin endulzante); T₃: (Extracto Ecurobusta + Azúcar); T₄: (Extracto Ecurobusta + Panela); Q₂: (Extracto Ecurobusta sin endulzante); T₅: (Extracto Conilon + Azúcar); T₆: (Extracto Conilon + Panela); Q₃: (Extracto Conilon sin endulzante); n: número de muestras.

De acuerdo con la figura 6 la evolución del potencial hidrogeno (pH) se redujo de manera significativa sobre todo en los primeros tres días. Del mismo modo al cambiar de niveles próximos a la neutralidad hasta un rango ácido, los tratamientos endulzados con azúcar y panela se estabilizaron con un pH entre de 4.09 y 3.79 para el día 7 mientras que los controles obtuvieron promedios más elevados. La velocidad de colonización del sustrato por parte de los microorganismos se manifiesta en mecanismo del pH,

además, la rápida disminución de los valores en los tres primeros días se debe a un crecimiento exponencial microbiano lo que se asemeja con la generación de los ácidos orgánicos de la cáscara de café, mientras que para garantizar la inocuidad de la bebida y evitar el crecimiento de patógenos es primordial una disminución rápida de pH por debajo de 4.5 antes del quinto día (Fiorda *et al.*, 2016).

En la **Tabla 11** se presenta los resultados de las variables de sólidos solubles, acidez titulable y potencial de hidrógeno (pH). Estos resultados estadísticos permiten cuantificar el nivel de significancia de los factores principales de diseño experimental las variedades de la cáscara de café, el tipo de endulzante y el tiempo de almacenamiento en semanas, así como reacciona el impacto simultáneo de sus interacciones sobre la etapa de almacenamiento.

Tabla 11. ANOVA multifactorial de parámetros sólidos solubles, acidez titulable y pH en almacenamiento

FV	SM	GL	CM	F- Calculada	Valor p
Sólidos Solubles					
A: Varietal	0.25	2	0.13	49.54	*
B: Endulzante	557.56	2	278.78	107529.04	*
C: Semanas	2.68	3	0.89	344.95	*
AB	1.44	4	0.36	138.57	*
AC	0.27	6	0.04	17.35	*
BC	0.12	6	0.02	7.56	*
ABC	0.29	12	0.02	9.52	*
Semanas x Tratamiento	0.68	24	0.00	10.99	*
Error Experimental	0.19	72	0.00		
Total	562.81	107			

Tabla 11. Continuación.

Acidez titulable					
A: Varietal	0.16	2	0.08	222.94	*
B: Endulzante	2.12	2	1.06	2988.33	*
C: Semanas	0.39	3	0.13	369.51	*
AB	0.14	4	0.03	98.61	*
AC	0.09	6	0.01	40.83	*
BC	0.07	6	0.01	31.81	*
ABC	0.05	12	0.00	13.26	*
Semanas x Tratamiento	0.21	24	0.01	24.79	*
Error Experimental	0.03	72	0.00		
Total	3.04	107			
pH					
A: Varietal	0.20	2	0.10	182.90	*
B: Endulzante	0.49	2	0.24	448.84	*
C: Semanas	7.59	3	2.53	4600.98	*
AB	0.40	4	0.10	183.99	*
AC	0.15	6	0.02	44.13	*
BC	0.43	6	0.07	131.25	*
ABC	0.23	12	0.01	34.62	*
Semanas x Tratamiento	0.80	24	0.03	61.16	*
Error Experimental	0.04	72	0.00		
Total	9.54	107			

Elaborado por: Caluguillín & Lema (2026)

Donde: **FV**: Fuente de Variación; **SM**: Suma de Cuadrados; **GL**: Grados de Libertad; **CM**: Cuadrado Medio; **F-Calculada**: Estadística de la prueba. Los factores **A** (Varietal), **B** (Endulzante) y **C** (Días), mientras que sus combinaciones (**AB**, **AC**, **BC**, **ABC**) denotan las interacciones cruzadas. En el Valor p, el asterisco (*) indica un efecto estadísticamente significativo ($p < 0.05$); por el contrario, N/C señala una interacción no significativa ($p > 0.05$), cuya leve variación se atribuye puramente al error experimental o residual del bioproceso.

El Análisis de Varianza presentado en la **Tabla 11** evaluó la estabilidad fisicoquímica de la bebida durante el almacenamiento, demostrando que la varietal del extracto de cáscaras, el endulzante, el tiempo de almacenamiento y sus interacciones ejercen un efecto significativo ($p < 0,05$) sobre el proceso. Para los sólidos solubles y la acidez titulable, se destacó la influencia predominante del endulzante $F = 107529,04$ y $F = 2988,33$, respectivamente, confirmando que la fuente de carbono gobierna el metabolismo

microbiano un comportamiento respaldado por (Randazzo *et al.*, 2016), quien señala que el perfil mineral de los endulzantes no refinados acelera el desarrollo de las bacterias ácido lácticas. La evolución del pH se mantuvo por el transcurso de las semanas $F = 4600,98$, reflejando una caída moderada que resulta indispensable para establecer barreras microbiológicas contra patógenos (Fiorda *et al.*, 2016) operando en sinergia con la capacidad amortiguadora intrínseca de la cáscara de café (Vandenberghe *et al.*, 2000). Finalmente, la validez de estas inferencias queda sólidamente respaldada por el error experimental del modelo, cuyos Cuadrados Medios (CM) residuales resultaron prácticamente nulos 0,00. Asegurando la estandarización de los procedimientos analíticos, de modo que las variaciones observadas correspondan a los tratamientos aplicados.

Tabla 12. Diferencia en parámetros fisicoquímicos entre factores (A), (B) Y (C) en la fase de almacenamiento por prueba TUKEY

Parámetro	Factor A Varietal			Factor B Endulzante		Factor C Tiempo (Almacenamiento)			
	Napo	Ecu	Coni	Azúcar	Panela	1	2	3	4
Sólidos Soluble	3.63 ^b	3.69 ^c	3.56 ^a	5.27 ^c	5.20 ^b	3.84 ^d	3.71 ^c	3.54 ^b	3.45 ^a
Acidez	0.29 ^c	0.20 ^a	0.28 ^b	0.24 ^b	0.44 ^c	0.18 ^a	0.23 ^b	0.28 ^c	0.34 ^d
pH	3.51 ^b	3.41 ^a	3.42 ^a	3.45 ^b	3.36 ^a	3.88 ^d	3.44 ^c	3.31 ^b	3.17 ^a

Elaborado por: Caluguillin & Lema (2026)

Donde: Los factores A (Varietal), B (Endulzante) y C (Días); Napo:(Napopayamino); Ecu:(Ecuobusta); Coni: (Conilon) **a-d:** Diferente letra en la misma columna indica la diferencia significativa entre los tratamientos ($<0,05$)

En la **Tabla 12** se observa el comportamiento fisicoquímico de los sólidos solubles, acidez y pH de la bebida fermentada durante el almacenamiento, evaluando cómo influyen los factores donde la varietal corresponde a (Factor A), el tipo de endulzante (Factor B) y el tiempo de almacenamiento (Factor C) donde el mismo es primordial para cambios fisicoquímicos, provocando una reducción significativa de los sólidos solubles y evidenciando una fuerte acidificación llegando casi a duplicarse. Este comportamiento se ve incrementado por el Factor B (Endulzante), donde el uso de panela genera niveles de acidez significativa en comparación con el azúcar, mientras que en el Factor A destaca la varietal Ecuobusta por conservar una mayor concentración de sólidos.

Tabla 13. Resultados de los parámetros fisicoquímicos durante almacenamiento.

Tratamientos	n	Sólidos solubles	Acidez Titulable	pH
		(ME ±DE)	(ME ±DE)	(ME ±DE)
T ₁	12	5.20±0.01 ^d	0.25±0.005 ^c	3.52±0.007 ^g
T ₂	12	5.05±0.01 ^c	0.47±0.005 ^f	3.48±0.007 ^{ef}
Q ₁	12	0.64±0.01 ^b	0.15±0.005 ^b	3.51±0.007 ^{fg}
T ₃	12	5.38±0.01 ^c	0.14±0.005 ^b	3.45±0.007 ^{de}
T ₄	12	5.35±0.01 ^c	0.41±0.005 ^c	3.32±0.007 ^b
Q ₂	12	0.33±0.01 ^a	0.06±0.005 ^a	3.45±0.007 ^d
T ₅	12	5.24±0.01 ^d	0.33±0.005 ^d	3.36±0.007 ^c
T ₆	12	5.19±0.01 ^d	0.42±0.005 ^c	3.28±0.007 ^a
Q ₃	12	0.28±0.01 ^a	0.07±0.005 ^a	3.62±0.007 ^h
CV (%)		0,95	1.96	0,70

Elaborado por: Caluguillin & Lema (2026)

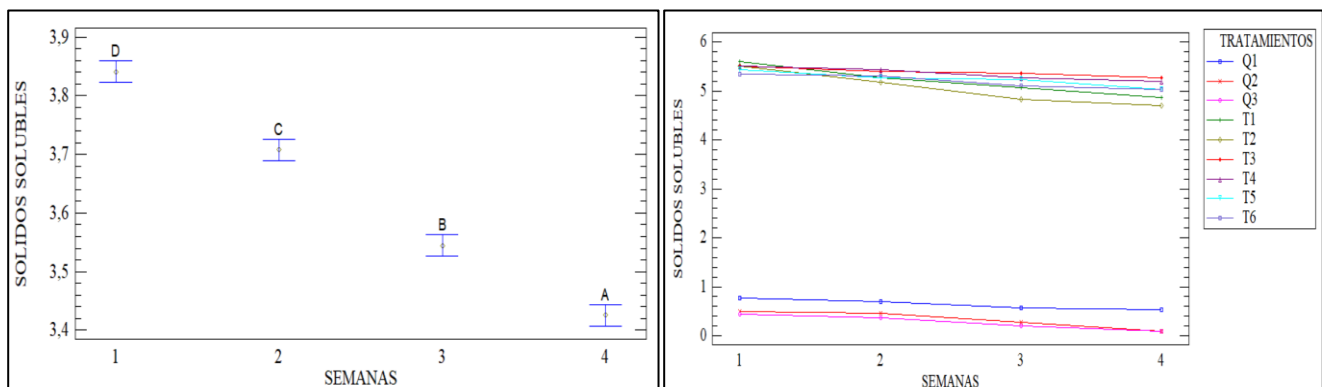
Donde: T₁: (Extracto Napopayamino + Azúcar); T₂: (Extracto Napopayamino + Panela); Q₁: (Extracto Napopayamino sin endulzante); T₃: (Extracto Ecurobusta + Azúcar); T₄: (Extracto Ecurobusta + Panela); Q₂: (Extracto Ecurobusta sin endulzante); T₅: (Extracto Conilon + Azúcar); T₆: (Extracto Conilon + Panela); Q₃: (Extracto Conilon sin endulzante); n: número de muestras; CV (%): (Coeficiente de variación); ME: (Media de mínimos cuadrados); DE: (Error estándar); a-h: Diferente letra en la misma columna indica la diferencia significativa entre los tratamientos (P<0,05).

Durante el periodo de almacenamiento en refrigeración, el comportamiento de los sólidos solubles demostró una excelente estabilidad, confirmando que se logra controlar eficazmente el proceso. Al observar los tratamientos endulzados, los valores se mantuvieron estables, variando entre los 5.05 sólidos solubles del tratamiento T₂ y los 5.38 sólidos solubles del T₃. Por su parte, los controles (Q₁, Q₂ y Q₃), debido a la falta de sustrato, mostraron niveles bajos que variaron entre 0.28 y 0.64 sólidos solubles. Un coeficiente de variación relativamente bajo (0.95%) respaldando que el proceso fermentativo se controló de manera eficaz, según (Zajšek & Goršek, 2010), explican que las levaduras del kéfir son extremadamente sensibles a temperaturas por debajo de los 5 °C, lo que detiene casi por completo su capacidad de degradar la sacarosa. Según (Laureys & De Vuyst, 2014), señala que la acidez y al pH por debajo de 3,28, favorece a mejorar el perfil sensorial y limitar la producción de CO₂. Sin embargo, aunque las levaduras entraron en latencia, el perfil de acidez titulable indica que cierta actividad microbiana persistió. En esta variable se observó diferencias estadísticas marcadas, predominado los tratamientos endulzados con panela con valores de los tratamientos T₂ (0.47%), T₆ (0.42%) y T₄ (0.41%)

mismas que registraron los valores más altos de ácidos orgánicos. Este ligero incremento metabólico en el frío ocurre porque la panela sigue aportando micronutrientes esenciales que mantienen funcional el metabolismo de ciertas bacterias lácticas (Yilmaz *et al.*, 2020). Cabe recalcar que el coeficiente de variación de esta variable (67.92%) no refleja un error de manipulación metodológica, sino que es un efecto estadístico al contrastar los valores altos de las muestras con panela frente a los valores bajos de los tratamientos sin endulzante. Tecnológicamente mantener la acidez controlada durante todo el mes de refrigeración es favorable, ya que previene la aparición de sabores avinagrados que suelen causar rechazo en este tipo de bebidas (Fiorda *et al.*, 2016).

De acuerdo con la **Tabla 13** el potencial de hidrógeno (pH), se destacó como la variable más estable de toda la fase de almacenamiento, con un coeficiente de variación del 0.70%. El tratamiento T₆ alcanzó el nivel más ácido (3.28), seguido por el T₄ (3.32). Este descenso del del pH en comparación con la fase inicial de fermentación confirma que la bebida paso por una post acidificación de acuerdo con (Özlu y Bölek 2024) en el que menciona que, aunque el frío limita la actividad metabólica microbiana dado que las bacterias ácido lácticas conservan una actividad enzimática lo que contribuye a la liberación protones al medio acuoso. Desde el enfoque de la inocuidad alimentaria esta conducta resulta favorable ya que los valores de pH son inferiores a 3.5, logramos construir una barrera protectora infranqueable contra el crecimiento de patógenos esporulados como *Bacillus cereus* y bacterias Gram negativas, garantizando seguridad del producto y una vida útil prolongada (Puerari *et al.*, 2012).

Figura 7: Interpretación de comportamiento de Sólidos solubles en la fase de almacenamiento.

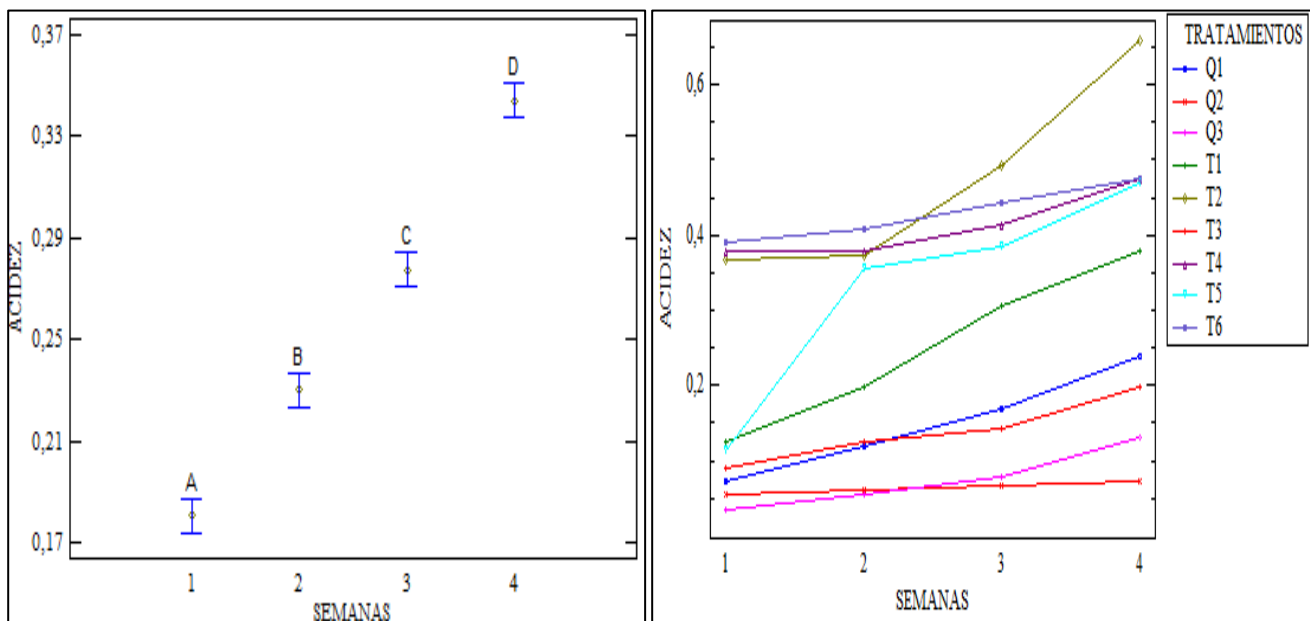


Elaborado por: Calaguillin & Lema (2026)

Donde: T₁: (Extracto Napopayamino + Azúcar); T₂: (Extracto Napopayamino + Panela); Q₁: (Extracto Napopayamino sin endulzante); T₃: (Extracto Ecurobusta + Azúcar); T₄: (Extracto Ecurobusta + Panela); Q₂: (Extracto Ecurobusta sin endulzante); T₅: (Extracto Conilon + Azúcar); T₆: (Extracto Conilon + Panela); Q₃: (Extracto Conilon sin endulzante); n: número de muestras

En la figura 7, según el comportamiento de sólidos solubles en las cuatro semanas de almacenamiento a 4°C los tratamientos no muestran alteraciones por microorganismos, los tratamientos con azúcar y panela mantuvieron un dulzor, mientras que los controles mostraron cantidades muy pequeñas de sólidos solubles durante el almacenamiento. La firmeza de los sólidos solubles muestra que el almacenamiento bloquea los procesos metabólicos de las levaduras fermenten la bebida. Según (Randazzo *et al.*, 2016), menciona que a temperaturas menores a 5°C las levaduras como es la *Saccharomyces cerevisiae* entran en una etapa de latencia donde el metabolismo glucolítico ayuda a preservar la vida útil del producto por tiempos más prolongados (Dalmau, 2024).

Figura 8: Interpretación del comportamiento de acidez en la fase de almacenamiento



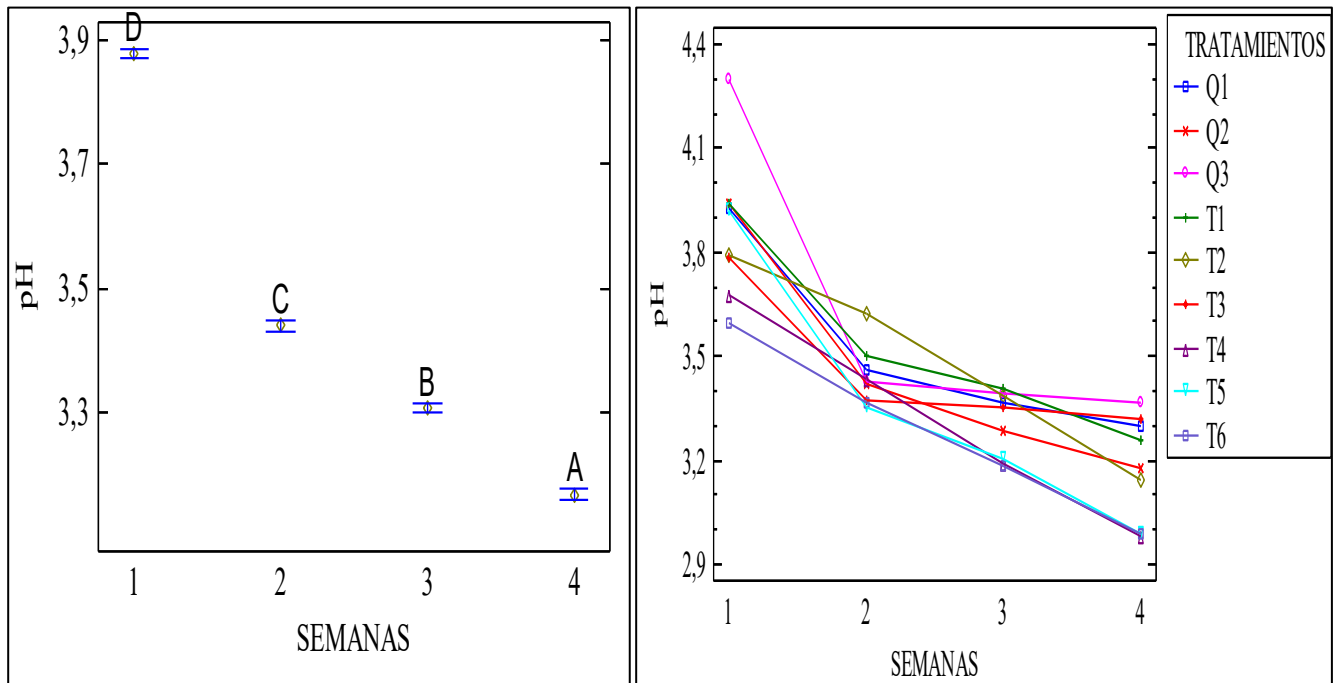
Elaborado por: Caluguillin & Lema (2026)

Donde: T₁: (Extracto Napopayamino + Azúcar); T₂: (Extracto Napopayamino + Panela); Q₁: (Extracto Napopayamino sin endulzante); T₃: (Extracto Ecurobusta + Azúcar); T₄: (Extracto Ecurobusta + Panela); Q₂: (Extracto Ecurobusta sin endulzante); T₅: (Extracto Conilon + Azúcar); T₆: (Extracto Conilon + Panela); Q₃: (Extracto Conilon sin endulzante); n: número de muestras

En las 4 semanas de almacenamiento se puede evidenciar un incremento ligero y continuo de acidez lo que nos ayuda a observar una acidificación moderada enfatizando en los tratamientos endulzados con panela alcanzaron los valores más altos de 0,35% y 0,38% en acidez, mientras que los tratamientos sin endulzantes arrojaron valores ligeramente menores. Dicho comportamiento es característico en refrigeración, las bacterias realizan una etapa de acidificación. De acuerdo con (Puerari *et al.*, 2012), afirma que las bacterias al entrar en contacto con el frío no inactivan su proceso, solo hace que la actividad

sea más lenta. Por otro lado, los resultados arrojados en las 4 semanas de almacenamiento son similares a los valores reportados por (Fiorda *et al.*, 2016), quien dice que las bebidas de kéfir endulzadas con miel arrojaron valores de acidez significativos hasta llegar al día 28 sin afectar el perfil sensorial de la bebida.

Figura 9: Interpretación del comportamiento de pH en la fase de almacenamiento.



Elaborado por: Caluguillin & Lema (2026)

Donde: T₁: (Extracto Napopayamino + Azúcar); T₂: (Extracto Napopayamino + Panela); Q₁: (Extracto Napopayamino sin endulzante); T₃: (Extracto Ecurobusta + Azúcar); T₄: (Extracto Ecurobusta + Panela); Q₂: (Extracto Ecurobusta sin endulzante); T₅: (Extracto Conilon + Azúcar); T₆: (Extracto Conilon + Panela); Q₃: (Extracto Conilon sin endulzante); n: número de muestras

El potencial hidrogeno en las 4 semanas de almacenamiento arrojó valores que se encuentran entre los 3,16 y 3,87 de pH y se puede mencionar que la acidez no cambió de una forma radical tomando en cuenta que el tratamiento T₆ fue el tratamiento que percibimos como el valor más bajo, y hace referencia a las más eficiente en seguridad de la bebida.

En este caso si el pH es inferior a 4,5 durante la fase de almacenamiento ayuda a que la bebida sea más segura. Según (Randazzo *et al.*, 2016), afirma que un pH inferior o ácido ayuda a conservar de forma natural la bebida y de esa manera evita crecimiento bacteriano en especial de la *Listeria monocytogenes* y *Salmonella spp.*

Análisis de compuestos bioactivos en almacenamiento

Para el análisis de datos experimentales se presentan los valores obtenidos de la determinación de metabolitos secundarios y la actividad funcional generados durante el periodo de almacenamiento con el propósito de analizar la influencia de los nueve tratamientos experimentales en la formación de compuestos durante el almacenamiento.

Tabla 14. ANOVA multifactorial para determinación de compuestos bioactivos de Polifenoles, flavonoides y antioxidantes en el almacenamiento.

FV	SM	GL	CM	F- Calculada	Valor p
Polifenoles					
A: Varietal	1616.35	2	808.17	2923.80	*
B: Endulzante	25.07	2	12.53	45.35	*
C: Días	71.13	3	23.71	85.78	*
AB	909.92	4	227.48	822.98	*
AC	22.09	6	3.68	13.32	*
BC	1.7.1	6	0.28	1.03	N/A
ABC	15.59	12	1.29	4.70	*
Días x Tratamiento	39.39	24	1.64	5.94	*
Error Experimental	19.90	72	0.27		
Total	2681.77	107			

Tabla 14. Continuación

Antioxidantes					
A: Varietal	516.52	2	258.26	19112.44	*
B: Endulzante	512.16	2	256.08	18951.28	*
C: Días	10.26	3	3.42	252.99	*
AB	444.89	4	111.22	8230.95	*
AC	0.48	6	0.08	5.93	*
BC	0.69	6	0.11	8.51	*
ABC	0.79	12	0.07	4.91	*
Días x Tratamiento		24	0.08	6.07	*
Error Experimental	0.97	72			
Total	1486.76	107			
Flavonoides					
A: Varietal	0.01	2	0.00	484.77	*
B: Endulzante	0.06	2	0.03	2900.77	*
C: Días	0.00	3	0.00	151.47	*
AB	0.02	4	0.00	411.37	*
AC	0.00	6	0.00	1.47	N/C
BC	0.00	6	0.00	12.57	*
ABC	0.00	12	0.00	1.99	*
Días x Tratamiento	0.00	24	0.00	4.50	*
Error Experimental	0.00	72	0.00		
Total	0.09	107			

Elaborado por: Caluguillin & Lema (2026)

Donde: **FV**: Fuente de Variación; **SM**: Suma de Cuadrados; **GL**: Grados de Libertad; **CM**: Cuadrado Medio; **F-Calculada**: Estadística de la prueba. Los factores **A** (Varietal), **B** (Endulzante) y **C** (Días), mientras que sus combinaciones (**AB**, **AC**, **BC**, **ABC**) denotan las interacciones cruzadas. En el Valor p, el asterisco (*) indica un efecto estadísticamente significativo ($p < 0.05$); por el contrario, N/C señala una interacción no significativa ($p > 0.05$), cuya leve variación se atribuye puramente al error experimental o residual del bioproceso.

Tabla 15. Diferencia en compuestos bioactivos entre factores (A), (B) Y (C) en la fase de almacenamiento por prueba TUKEY

Parámetro	Factor A			Factor B		Factor C			
	Varietal			Endulzante		Tiempo (Almacenamiento)			
	Napo	Ecu	Coni	Azúcar	Panela	1	2	3	4
Polifenoles	17.67 ^c	8.67 ^a	11.48 ^b	12.57 ^b	13.06 ^c	11.48 ^a	13.73 ^d	12.60 ^c	12.22 ^b
Antioxidantes	48.79 ^c	43.72 ^a	44.75 ^b	42.95 ^a	48.26 ^c	46.12 ^d	45.29 ^a	45.70 ^b	45.89 ^c
Flavonoides	0.05 ^c	0.05 ^b	0.03 ^a	0.03 ^b	0.07 ^c	0.03 ^a	0.04 ^b	0.05 ^d	0.04 ^c

Elaborado por: Caluguillin & Lema (2026)

Donde: Los factores **A** (Varietal), **B** (Endulzante) y **C** (Días); Napo:(Napotayamino); Ecu:(Ecurubusta); Coni: (Conilon)**a-d:** Diferente letra en la misma columna indica la diferencia significativa entre los tratamientos (<0,05)

La **Tabla 15** se observa el comportamiento de los compuestos bioactivos de la bebida durante el almacenamiento evaluando como influyen los factores donde el Factor A (Varietal) y el Factor B (Endulzante) son los factores principales una bebida funcional destacando la varietal Napotayamino por la mayor concentración de polifenoles y capacidad antioxidantes. Asimismo, el uso de panela como endulzante potencia significativamente el valor biológico de la bebida frente al azúcar, aportando niveles superiores de lo cual se atribuye a los compuestos fenólicos naturales de la que aporta la caña, por otro lado se observa que los compuestos bioactivos no presentan una disminución lineal dado que se observan valores elevados en el tiempo 2 para polifenoles y tiempo 3 para flavonoides, sugiriendo una liberación de compuestos ligados antes de su estabilización final en el periodo 4.

Tabla 16. Resultado de compuestos bioactivos durante el almacenamiento

Tratamientos	n	Polifenoles (ME ± DE)	Antioxidantes (ME ± DE)	Flavonoides (ME ± DE)
T ₁	12	15.87±0.15 ^f	48.67±0.03 ^g	0.05±0.001 ^c
T ₂	12	17.22±0.15 ^g	48.36±0.03 ^f	0.07±0.001 ^d
Q ₁	12	19.94±0.15 ^h	49.33±0.03 ⁱ	0.05±0.001 ^c
T ₃	12	12.49±0.15 ^e	37.90±0.03 ^a	0.04±0.001 ^b
T ₄	12	5.25±0.15 ^a	47.44±0.03 ^e	0.10±0.001 ^e
Q ₂	12	7.36±0.15 ^b	45.83±0.03 ^d	0.01±0.001 ^a
T ₅	12	9.37±0.15 ^d	42.28±0.03 ^b	0.01±0.001 ^a
T ₆	12	16.72±0.15 ^g	48.98±0.03 ^h	0.07±0.001 ^d
Q ₃	12	8.37±0.15 ^c	42.99±0.03 ^c	0.02±0.001 ^a
CV (%)		1,44	0,07	53,93

Elaborado por: Caluguillin & Lema (2026)

Donde: T₁: (Extracto Napopayamino + Azúcar); T₂: (Extracto Napopayamino + Panela); Q₁: (Extracto Napopayamino sin endulzante); T₃: (Extracto Ecuobusta + Azúcar); T₄: (Extracto Ecuobusta + Panela); Q₂: (Extracto Ecuobusta sin endulzante); T₅: (Extracto Conilon + Azúcar); T₆: (Extracto Conilon + Panela); Q₃: (Extracto Conilon sin endulzante); n: número de muestras; CV (%): (Coeficiente de variación); ME: (Media de mínimos cuadrados); DE: (Error estándar); a-h: Diferente letra en la misma columna indica la diferencia significativa entre los tratamientos (P<0,05).

Según la **Tabla 16** al evaluar el comportamiento de los compuestos bioactivos de Polifenoles tras 28 días de almacenamiento en frío queda en evidencia que la genética de la cáscara de café es crucial para la retención de estas moléculas, especialmente en el caso de los polifenoles totales. Los datos revelan una superioridad estadística en los tratamientos derivados de la varietal Napopayamino. El tratamiento sin endulzante Q₁ alcanzó la concentración máxima del estudio con 19.94 mg GAE/ml, seguido por el tratamiento endulzados con panela T₂ (17.22 mg GAE/ml) y el tratamiento T₆ (16.72 mg GAE/ml). Mientras que la varietal Ecuobusta demostró una menor retención fenólica, descendiendo hasta los 5.25 mg GAE/ml en el tratamiento T₄.

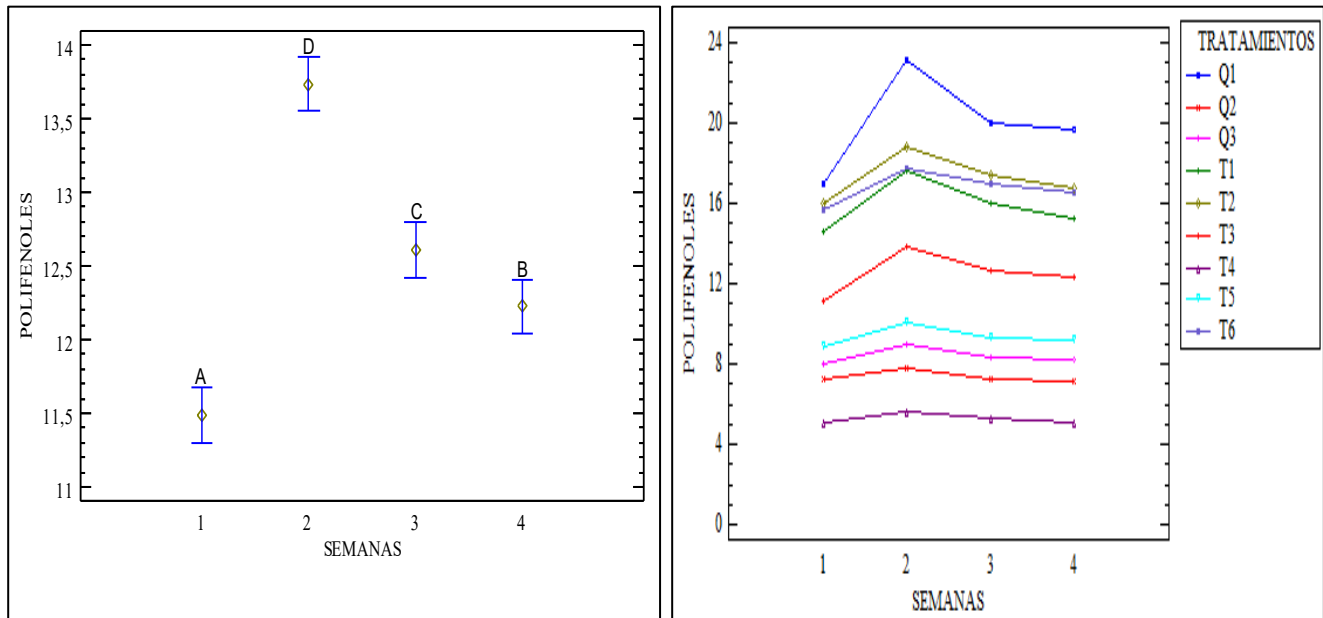
El mayor contenido de compuestos fenólicos observados de la varietal Napopayamino se asocia a particularidades genéticas de ciertos clones amazónicos de *Coffea canephora*, los cuales acumulan altos niveles de ácidos clorogénicos como mecanismo de defensa natural. Dado que la familia fenólica

representa ácidos más abundantes en los subproductos del café, la producción metabólica de estos compuestos se nota en los altos valores de cuantificación. Donde los tratamientos endulzados con azúcar y panela (T₁ y T₂) arrojaron cifras ligeramente inferiores al tratamiento sin endulzante (Q₁). Según (Azmir *et al.* 2013), explica que durante la fermentación con kéfir puede reducir una cantidad de polifenoles detectables dado que parte de este compuesto se transforman o a adherirse a las células microbianas y de esa manera reducir la parte soluble. Por otro lado, el tratamiento con panela demostró ser una excelente equilibrante tal como se observa en el tratamiento T₆, la adición de este edulcorante aporta sus propios compuestos fenólicos derivados de la caña de azúcar, lo que genera un incremento en el sistema logrando conservar cifras altas incluso tras cuatro semanas de refrigeración (Vargas *et al.*, 2022).

De acuerdo con la **Tabla 16** el perfil fenólico se muestra directamente en una capacidad antioxidante alta, evidenciada por un coeficiente de variación (0.07%). Los tratamientos Q₁ (49.33%) y T₆ (48.98%) destacaron con valores altos y sin mostrar diferencias significativas entre sí. La acción complementaria de estos compuestos presentes en la cascara de café y aportes de la panela ayudan a incrementar la capacidad antioxidante durante las cuatro semanas. De acuerdo con, (Bacca *et al.*, 2025), afirman que los antioxidantes nativos de la panela actúan como barrera protectora que previene la degradación oxidativa de los polifenoles de tal manera que el pH ácido de la bebida y las condiciones de almacenamiento favorecen la conservación y la actividad bioactiva en tiempos prolongados.

Finalmente, de acuerdo con la **Tabla 16**, se puede observar que las concentraciones de los flavonoides cambiaron de forma notable. Las concentraciones fueron mucho más discretas, oscilando entre 0.01 y 0.07 mg/ml para la mayoría de las muestras, lo que provocó una amplia dispersión estadística reflejada en el coeficiente de variación CV del 53.93%. Sin embargo, el tratamiento T₄ registra un pico significativo de 0.10 mg/ml. Este valor reporta que los flavonoides se liberan cuando las enzimas logran atravesar la estructura vegetal. Según, (Bacca *et al.*, 2025), señalan que muchos flavonoides se encuentran anclados a la membrana celular vegetal y solo logran liberarse al medio líquido gracias a la acción de enzimas hidrolíticas como celulasas y pectinasas generadas por el grupo microbiano durante la fermentación, dado esto el tratamiento T₄ puede estar más propenso a hidrólisis enzimática a lo largo de almacenamiento prolongado, facilitando una mayor liberación de estos compuestos hacia el medio líquido en comparación de las demás variedades.

Figura 10: Interpretación del comportamiento de polifenoles en la fase de almacenamiento



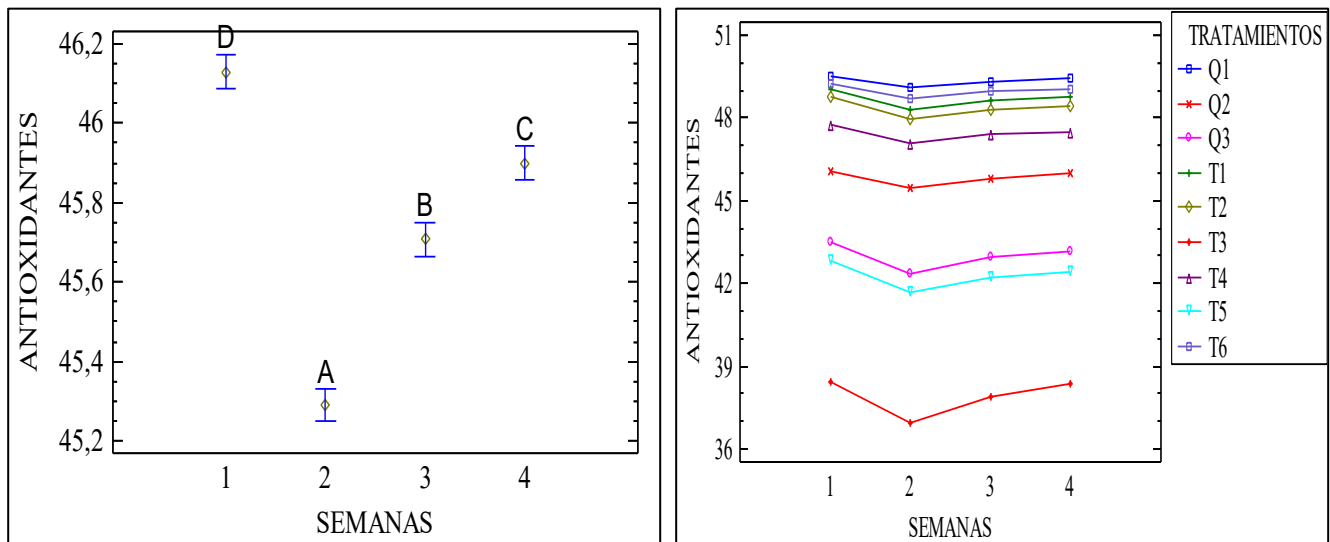
Elaborado por: Caluguillin & Lema (2026)

Donde: T₁: (Extracto Napopayamino + Azúcar); T₂: (Extracto Napopayamino + Panela); Q₁: (Extracto Napopayamino sin endulzante); T₃: (Extracto Ecurobusta + Azúcar); T₄: (Extracto Ecurobusta + Panela); Q₂: (Extracto Ecurobusta sin endulzante); T₅: (Extracto Conilon + Azúcar); T₆: (Extracto Conilon + Panela); Q₃: (Extracto Conilon sin endulzante); n: número de muestras

En cuanto a polifenoles se puede evidenciar que dependiendo de las variedades de café pueden predominar el contenido de polifenoles en este caso con el nivel más alto es la variedad Napopayamino en especial a Q₁ con un valor de 19,94 mg GAE/mL lo que indica que tuvo una buena estabilidad en la etapa de almacenamiento.

Enfatizando que el contenido de polifenoles es por una barrera que se crea por el medio ácido lo que le ayuda a comportarse como un conservante natural. Según (Ramirez, 2012), afirma que los valores arrojados por la variedad Napopayamino tiene una similitud en la variedad de café robusta con un mayor contenido de antioxidantes.

Figura 11: Interpretación del comportamiento de antioxidantes en la fase de almacenamiento



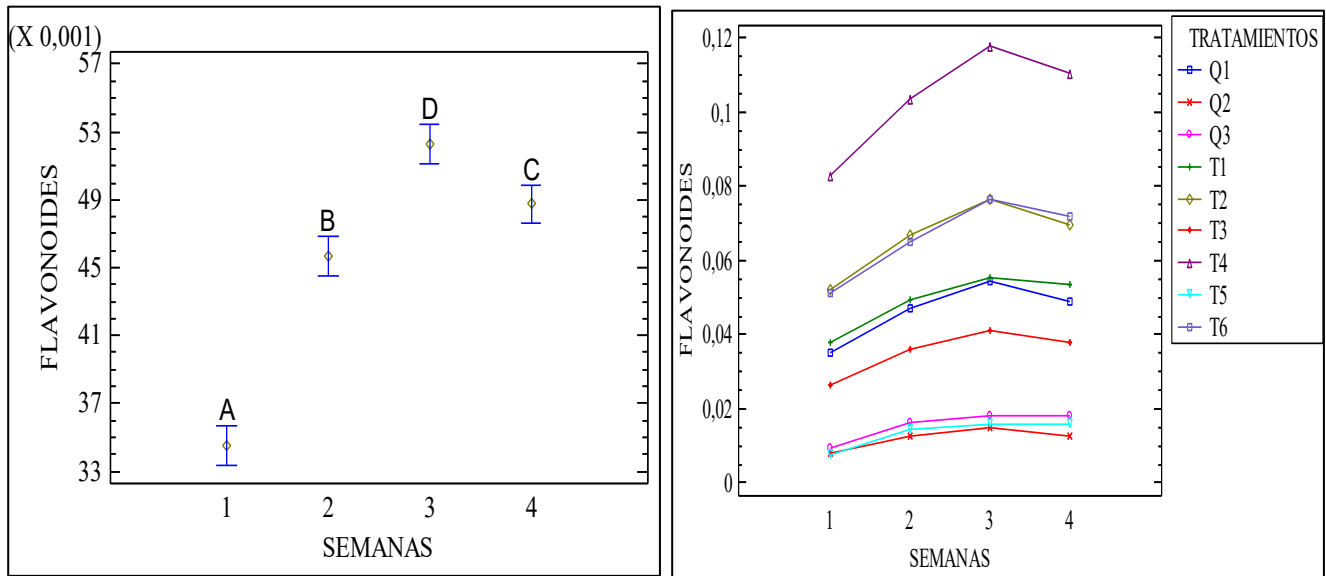
Elaborado por: Caluguillin & Lema (2026)

Donde: T₁: (Extracto Napopayamino + Azúcar); T₂: (Extracto Napopayamino + Panela); Q₁: (Extracto Napopayamino sin endulzante); T₃: (Extracto Ecuobusta + Azúcar); T₄: (Extracto Ecuobusta + Panela); Q₂: (Extracto Ecuobusta sin endulzante); T₅: (Extracto Conilon + Azúcar); T₆: (Extracto Conilon + Panela); Q₃: (Extracto Conilon sin endulzante); n: número de muestras

En cuanto a contenido de antioxidantes se pudo observar que el tratamiento predominante fue Q₁ el cual arrojó un valor alto en radicales libres a diferencia de los tratamientos que son endulzados con panela durante el almacenamiento en los cuales los antioxidantes fueron más protegidos por el pH.

Durante el almacenamiento los antioxidantes se mantuvieron estables lo que ayuda a indicar que la bebida conserva su vida útil a lo largo del almacenamiento, de acuerdo con (Vargas *et al.*, 2022), afirmando que el pH ayuda a proteger a los antioxidantes ya que crea un medio ácido lo que ayuda a que no se degraden con facilidad.

Figura 12: Interpretación del comportamiento de flavonoides en la fase de almacenamiento.



Elaborado por: Caluguillin & Lema (2026)

Donde: T₁: (Extracto Napopayamino + Azúcar); T₂: (Extracto Napopayamino + Panela); Q₁: (Extracto Napopayamino sin endulzante); T₃: (Extracto Ecuobusta + Azúcar); T₄: (Extracto Ecuobusta + Panela); Q₂: (Extracto Ecuobusta sin endulzante); T₅: (Extracto Conilon + Azúcar); T₆: (Extracto Conilon + Panela); Q₃: (Extracto Conilon sin endulzante); n: número de muestras

En cuanto a contenido de flavonoides se observó que fue el compuesto más bajo en comparación con polifenoles y antioxidantes dentro de la bebida, enfatizando en la variedad Ecuobusta endulzada con panela T₄ fue el tratamiento que arrojó un valor superior a todos con 0,10 mg/mL lo que la hace superar a los demás tratamientos endulzados con azúcar y panela y sin azúcar que es el control.

En la concentración de flavonoides sobre salen los tratamientos con panela esto explica que tiene un efecto sinérgico como quercetina y epicatequinas de la cáscara de café el cual se unen a los flavonoides de la panela que provienen de la caña de azúcar lo cual los hace inestables y más propensos a degradarse en el almacenamiento. De acuerdo con (Harborne & Williams, 2000), dice que los flavonoides están presentes en la bebida durante los 28 días ya que aporta efectos antiinflamatorios que ayudan a complementar la actividad antioxidante de la bebida.

Análisis microbiológicos

La microbiología es un punto clave en el aseguramiento de la calidad de productos biotecnológicos, en la **Tabla 17** se puede observar los análisis realizados durante 28 días de almacenamiento, a una temperatura de $4 \pm 1^\circ\text{C}$ evaluando la inocuidad de la bebida. Estos análisis son un punto crítico para

confirmar que las barreras de conservación actúan eficazmente a través de recuentos patógenos y microorganismos propios del proceso. Se evaluó el cumplimiento de buenas prácticas de manufactura en la normativa (NTE INEN 2395, 2011).

Tabla 17. Perfil microbiológico promedio y validación de inocuidad durante el almacenamiento refrigerado

Tratamientos	n	<i>E. coli</i>	Coliformes totales	Mesófilos aerobios (UFC/mL)	Hongos y levaduras.
T ₁	12	AUSENCIA	<1x10 ¹	1.9x10 ⁴	MNPC
T ₂	12	AUSENCIA	<1x10 ¹	2.4x10 ⁴	MNPC
Q ₁	12	AUSENCIA	<1x10 ¹	8.5x10 ³	MNPC
T ₃	12	AUSENCIA	<1x10 ¹	1.5x10 ⁴	MNPC
T ₄	12	AUSENCIA	<1x10 ¹	2.7x10 ⁴	MNPC
Q ₂	12	AUSENCIA	<1x10 ¹	9.2x10 ³	MNPC
T ₅	12	AUSENCIA	<1x10 ¹	2.0x10 ⁴	MNPC
T ₆	12	AUSENCIA	<1x10 ¹	2.5x10 ⁴	MNPC
Q ₃	12	AUSENCIA	<1x10 ¹	8.8x10 ³	MNPC

Elaborado por: Caluguillin & Lema (2026)

Donde: T₁: (Extracto Napopayamino + Azúcar); T₂: (Extracto Napopayamino + Panela); Q₁: (Extracto Napopayamino sin endulzante); T₃: (Extracto Ecurobusta + Azúcar); T₄: (Extracto Ecurobusta + Panela); Q₂: (Extracto Ecurobusta sin endulzante); T₅: (Extracto Conilon + Azúcar); T₆: (Extracto Conilon + Panela); Q₃: (Extracto Conilon sin endulzante); n: número de muestras; UFC: unidades formadoras de colonias; MNPC; (Muy numerosos para contar).

El perfil microbiológico durante el almacenamiento se observa en la **Tabla 17** donde la bebida es completamente segura y biológicamente activa. En primer lugar, la ausencia de *Escherichia coli* (<1x10¹ UFC/mL) valida su inocuidad bajo los estrictos criterios de la norma NTE INEN 2395 (2011) para leches fermentadas. Esta exclusión de patógenos no es casualidad; como explican (Puerari *et al.*, 2012), la rápida producción de ácidos orgánicos por parte del kéfir crea una barrera infranqueable para las enterobacterias.

Garantizada la seguridad, la evaluación de mesófilos aerobios demostró la excelente vitalidad de la flora benéfica. Los mostos endulzados conservaron poblaciones viables en el orden de 10⁴ UFC/mL, destacando notablemente las mezclas con panela (T₂, T₄ y T₆) con los recuentos más altos. Esto obedece

a que los minerales no refinados de la panela actúan como un escudo nutricional que protege a las bacterias del estrés por refrigeración (Salazar *et al.*, 2016). Además, mantener estos niveles libres en el líquido es el escenario tecnológico ideal; según (Demarchi *et al.*, 2025), el grueso de la biomasa debe quedarse anclada en el gránulo de kéfir para evitar que la bebida final se enturbie o adquiera defectos sensoriales.

Para completar el análisis de este ecosistema simbiótico, el reporte de placas "muy numerosas para contar" (MNPC) en hongos y levaduras no representa un deterioro, sino el sello de autenticidad del producto. Esta abundancia de levaduras simbióticas *Saccharomyces* es la responsable de la efervescencia y el aroma característico. Tal como subraya (Fiorda *et al.*, 2017), estas especies agotan el oxígeno residual para proteger el medio y, mediante su proceso de autólisis, terminan enriqueciendo la bebida con vitaminas del complejo B, preservando sus cualidades sensoriales a lo largo de su vida útil.

Análisis sensorial.

Para evaluar la viabilidad comercial de la bebida, el análisis instrumental se complementó con una evaluación sensorial que se observa en la **Tabla 18**. Se calificaron los atributos organolépticos aspecto, color, olor, sabor y aceptabilidad general al finalizar la fermentación activa (Día 0) y tras el almacenamiento refrigerado (Día 28). Este contraste temporal permite identificar la formulación de mayor preferencia y determinar si las propiedades sensoriales derivadas del metabolismo simbiótico y la fermentación mantienen su estabilidad o sufren deterioro durante su vida útil.

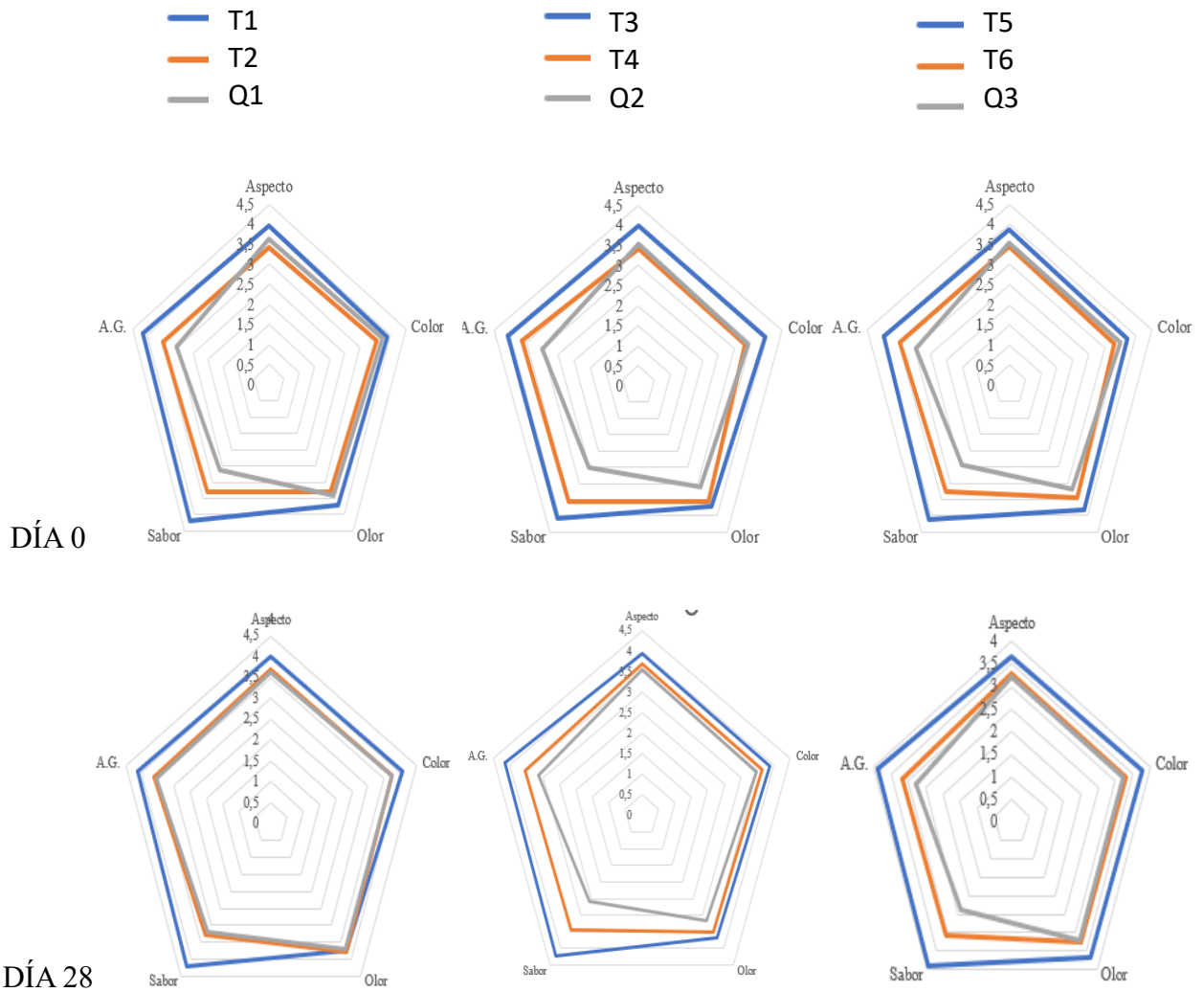
Tabla 18. Análisis sensorial de la bebida fermentada a los 0 días de fermentación y 28 de almacenamiento

Tratamientos	Tiempo	Aspecto	Color	Olor	Sabor	A.G
		(ME ± DE)	(ME ± DE)	(ME ± DE)	(ME ± DE)	(ME ± DE)
T ₁	0	3.95±0.82 ^{ab}	3.89±0.78 ^{ab}	3.70±0.89 ^{ab}	4.20±0.77 ^a	4.14±0.72 ^a
T ₁	28	4.00±0.66 ^a	4.07±0.63 ^a	3.77±0.81 ^a	4.23±0.69 ^a	4.12±0.60 ^a
T ₂	0	3.41±0.76 ^c	3.55±0.81 ^{abc}	3.30±0.81 ^{abc}	3.30±0.81 ^b	3.50±0.74 ^{cd}
T ₂	28	3.70±0.71 ^{abc}	3.73±0.73 ^{ab}	3.79±0.71 ^a	3.27±0.88 ^c	3.61±0.68 ^b
Q ₁	0	3.64±0.82 ^{abc}	3.73±0.75 ^{abc}	3.41±0.87 ^{abc}	2.61±0.89 ^c	3.05±0.86 ^{ef}
Q ₁	28	3.62±0.75 ^{abc}	3.73±0.73 ^{ab}	3.70±0.79 ^{ab}	3.18±0.86 ^c	3.54±0.69 ^{bc}
T ₃	0	4.00±0.79 ^a	3.95±0.82 ^a	3.70±0.78 ^{ab}	4.07±0.83 ^a	4.09±0.72 ^{ab}
T ₃	28	3.93±0.76 ^{ab}	3.88±0.81 ^{ab}	3.68±0.94 ^{ab}	4.23±0.69 ^a	4.16±0.63 ^a
T ₄	0	3.41±0.85 ^c	3.34±0.96 ^c	3.54±0.89 ^{abc}	3.54±0.99 ^b	3.64±0.94 ^{bc}
T ₄	28	3.68±0.83 ^{abc}	3.66±0.79 ^{abc}	3.52±0.93 ^{abc}	3.45±1.03 ^{bc}	3.55±0.76 ^{bc}
Q ₂	0	3.54±0.91 ^{abc}	3.41±0.97 ^{bc}	3.11±0.95 ^c	2.52±0.99 ^c	3.02±0.86 ^{ef}
Q ₂	28	3.54±0.91 ^{bc}	3.46±0.89 ^{bc}	3.16±0.80 ^c	2.59±0.73 ^d	3.14±0.72 ^{cd}
T ₅	0	3.88±0.77 ^{abc}	3.71±0.82 ^{abc}	3.80±0.77 ^a	4.11±0.62 ^a	3.96±0.69 ^{abc}
T ₅	28	3.68±0.83 ^{ab}	3.77±0.76 ^{ab}	3.70±0.87 ^{ab}	3.91±0.77 ^{ab}	3.89±0.71 ^{ab}
T ₆	0	3.45±0.87 ^{bc}	3.32±0.97 ^c	3.45±0.95 ^{abc}	3.27±1.14 ^b	3.46±1.01 ^{de}
T ₆	28	3.30±0.81 ^c	3.30±0.78 ^c	3.25±0.81 ^{bc}	3.09±1.01 ^c	3.16±0.93 ^{cd}
Q ₃	0	3.54±1.03 ^{abc}	3.50±0.89 ^{abc}	3.20±0.84 ^{bc}	2.43±0.74 ^c	2.96±0.76 ^f
Q ₃	2	3.23±0.85 ^c	3.23±1.01 ^c	3.20±0.84 ^c	2.36±0.84 ^d	2.77±0.83 ^d
CV (%)		22,64	23,09	25,45	25,44	22,27

Elaborado por: Caluguillin & Lema (2026)

Donde: T₁: (Extracto Napopayamino + Azúcar); T₂: (Extracto Napopayamino + Panela); Q₁: (Extracto Napopayamino sin endulzante); T₃: (Extracto Ecuobusta + Azúcar); T₄: (Extracto Ecuobusta + Panela); Q₂: (Extracto Ecuobusta sin endulzante); T₅: (Extracto Conilon + Azúcar); T₆: (Extracto Conilon + Panela); Q₃: (Extracto Conilon sin endulzante); n: número de muestras; AG: (aceptabilidad general).

Figura 13: Interpretación de análisis sensoriales al día 0 de fermentación y 28 de almacenamiento.



Donde: T1: (Extracto Napopayamino + Azúcar); T2: (Extracto Napopayamino + Panela); Q1: (Extracto Napopayamino sin endulzante); T3: (Extracto Ecurobusta + Azúcar); T4: (Extracto Ecurobusta + Panela); Q2: (Extracto Ecurobusta sin endulzante); T5: (Extracto Conilon + Azúcar); T6: (Extracto Conilon + Panela); Q3: (Extracto Conilon sin endulzante).

El resultado de la evaluación sensorial demostró un análisis de significancia del valor ($P < 0.05$) en la preferencia de los 56 panelistas no entrenados con una aceptación del sustrato (Azúcar) que jugó un rol muy importante en la aceptabilidad final del producto y los tratamientos formulados con sacarosa T₁ y T₃, obtuvieron los puntajes máximos de aceptabilidad general (4,23 a 4,16 respectivamente), en el almacenamiento, y también superaron estadísticamente a la formulación tanto de panela y controles, este comportamiento se atribuye al azúcar que al ser un sustrato neutro favorece a la bebida evitando una astringencia de los taninos del café y logrando un perfil sensorial más limpio que el obtenido con azúcares

no refinadas cuyas notas son más astringentes. Según (Çevik *et al.*, 2019) la estabilidad favorable fue durante los 28 días, esto valida la eficacia de la refrigeración para ralentizar el metabolismo bacteriano y se encarga de mitigar la post-acidificación un mecanismo de frescura y viabilidad en la bebida funcional (Tzavaras *et al.*, 2022).

12. IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS)

SOCIAL

El impacto social es el desarrollo de una bebida funcional con propiedades probióticas. que ofrecen una alternativa saludable a los consumidores frente a las bebidas carbonatadas tradicionales además fomenta la salud digestiva gracias a la viabilidad demostrada de bacterias lácticas y levaduras beneficiosas.

AMBIENTAL

El impacto ambiental que ofrece nuestro proyecto es una disminución de la carga que genera la industria cafetera mediante la valorización de cáscaras de café (*Coffea canephora*), transformando este residuo de difícil aprovechamiento para fomentar así la economía circular.

TÉCNICO

El impacto técnico de nuestra investigación es la validación de estándares biotecnológicos de fermentación controlada que garantiza la inocuidad y estabilidad sensorial en la bebida por 28 días a refrigeración de 4 °C. demostrando viabilidad al no utilizar sustratos lácteos para el cultivo de búlgaros.

ECONOMICO

La mayor parte del estudio se generó a partir de darle un valor agregado a un subproducto de bajo costo, como es la cáscara de café permitiendo a los caficultores diversificar su oferta comercial y obtener nuevos ingresos a partir de un subproducto que anteriormente se consideraba como desperdicio.

13. PRESUPUESTO

Tabla 19. Presupuesto para la elaboración de la bebida

Descripción	Unidad de medida	Cantidad	Costo unitario	Costo total (USD)	Fuente de financiamiento
Materia prima e insumos					
Cáscara de café	kg	3.300	0.30	0.93	Propio
Panela	kg	2	1.50	3.00	Propio
Azúcar blanca	kg	2	1.18	2.36	Propio
Botellas de vidrio (500 mL)	Dos docenas y 3 unidades	27	1.50	40.50	Propio
Agua purificada	Unidades	5	1.25	6.25	Propio
Materiales y reactivos					
Agar PCA	Gramos	117.48	30.00	30.00	Institucional
Agar PDA	Gramos	195	32.00	32.00	Propio
Petrifilm <i>E. coli</i>	Paquete	2	53.00	106.00	Propio
Agua de Petona	Gramos	25.48	11.50	11.50	Propio
Guantes, mascarillas, alcohol	Global	1.00	10.00	10.00	Propio
Papel aluminio masking	Global	1.00	3.00	3.00	Propio
Toallitas absorbentes	Paquete X3	2	2.00	4.00	Propio
Análisis sensorial					
Vasos pequeños	Paquete X50	18	1.0.	18.00	Propio
Agua mineral	Litros	5	0.50	2.50	Propio
Rotuladores	Unidades	2	1.00	2.00	Propio.
Impresiones	Copias	200	0.05	10.00	Propio
Esferos	Unidades	21	0.35	7.35	Propio
Impresión del documento final					
Empastado de tesis	Unidad	2	2.00	4.00	Propio
Impresión del documento borrador	Global	2	5.00	10.00	Propio
Total, generado del proyecto					393.39

Elaborado por: Caluguillin & Lema (2026)

14. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

14.1. CONCLUSIONES

- La evaluación fisicoquímica demostró que el proceso biotecnológico de fermentación y su posterior estabilización bajo almacenamiento a (4°C), fueron altamente efectivos para el control donde se observó un consumo de azúcares y los sólidos solubles descendieron de manera pronunciada durante los primeros tres días, estabilizándose de forma constante entre 5.05 y 5.38 para los tratamientos endulzados durante todo el periodo de almacenamiento, lo indica que las levaduras entraron en estado de latencia, previniendo una sobre fermentación, la reducción del potencial de hidrógeno (pH), alcanzó rangos de 3.28 a 3.87 en la fase de almacenamiento, junto con un incremento moderado de la acidez titulable alcanzando hasta 0.38% en formulaciones con panela, actúan como un mecanismo de preservación.
- El análisis microbiológico, la bebida demostró ser un medio seguro, que se consolida como un producto bioactivo y funcional gracias a la viabilidad de su carga microbiana benéfica. Los recuentos revelaron una supervivencia sostenida de bacterias mesófilas aerobias y levaduras simbióticas, alcanzando concentraciones óptimas en el orden de 10^4 UFC/mL tras cuatro semanas de almacenamiento, la eficacia de esta barrera ácida quedó comprobada de manera concluyente al reportarse una ausencia absoluta de *Escherichia coli* y coliformes totales en todos los tratamientos, validando el cumplimiento de los estándares higiénicos y normativos de la industria alimentaria.
- La bebida demostró poseer un perfil funcional, influenciado significativamente por la varietal de café utilizada. Destacó el tratamiento de la variedad Napopayamino sin endulzar, el cual alcanzó el mayor contenido de polifenoles totales (19.94 mg GAE/mL) y una capacidad antioxidante máxima (49.33%). Estos compuestos, sumados a la presencia de flavonoides y cafeína, se mantuvieron altamente estables durante las cuatro semanas de almacenamiento, comprobando que el ambiente fermentado y refrigerado protege contra la degradación oxidativa.
- La evaluación sensorial demostró de manera contundente que la aceptabilidad del producto está fuertemente condicionada por atracción cultural hacia los perfiles dulces refinados. Los panelistas mostraron una enmarcación y preferencia por los tratamientos formulados con sacarosa (azúcar blanca), los cuales obtuvieron los puntajes máximos de aceptabilidad general (hasta 4.23 sobre

5). La sacarosa actuó como un sustrato neutro perfecto que logró enmascarar y armonizar la amargura y astringencia natural de los taninos de la cáscara de café.

14.2. RECOMENDACIONES

- Se recomienda que en estudios futuros se evalúe los tratamientos con panela, ya que su aceptabilidad fue media, pero posee un mayor valor nutricional excepcional y se sugiere que en pruebas futuras se añada otro tipo de especias que podría enmarcar las notas sensoriales.
- En base a la fermentación para estudios de industrialización se recomienda monitorear el conteo alcohólico residual generado por las levaduras que contiene el kéfir durante el almacenamiento, si bien la refrigeración controla este proceso, un estudio de vida útil extendida sería necesario para asegurar que el producto se mantenga dentro de normativa de bebidas alcohólicas durante más días.
- Para el análisis sensorial, se validó la aceptación comercial en los 56 panelistas no entrenados, se sugiere realizar un análisis descriptivo con jueces semi entrenados para obtener una descripción técnica de sabores específicos en la elaboración de la bebida fermentada qué diferencie entre las 3 varietales Napopayamino, Ecurobusta y Conilon proporcionando herramientas de marketing más sofisticadas para el producto.
- En estudios posteriores se sugiere cuantificar los niveles de cafeína en la bebida, ya que se evidencio que la cascará los posee esto garantiza que el producto sea una alternativa energizante natural atrayendo a más consumidores, especialmente deportistas o estudiantes que buscan alternativas al café tradicional.

15. BIBLIOGRAFÍA

- Alarcó López, A. (2011). *Modelo de gestión productiva para el cultivo de café (COFFEA ARABICA L.) en el sur de Ecuador*.
- Álvarez, C., Oriente, V. S.-S. de C. U. de, & 1995, undefined. (n.d.). Metodología de la investigación científica. *Researchgate.Net*. Retrieved February 1, 2026, from https://www.researchgate.net/profile/Miguel-Alvarez-16/publication/341639068_Metodologia_de_la_Investigacion_Cientifica/links/5ecc802f92851c11a88a9fd2/Metodologia-de-la-Investigacion-Cientifica.pdf
- Alyassin, M., & Campbell, G. M. (2023). Challenges and constraints in analysis of oligosaccharides and other fibre components. *The Value of Fibre: Engaging the Second Brain for Animal Nutrition*, 257–278. https://doi.org/10.3920/978-90-8686-893-3_15
- Antonio, C. G., Romero, L. A. R., Trejo, J. F. G., & Pérez, A. A. F. (2021). Revalorización de residuos del cultivo de café: Rumbo a una economía circular. *Digital Ciencia@uaqro*, 14(1), 71–79. <https://revistas.uaq.mx/index.php/ciencia/article/view/107>
- AOAC 912.15. (2019). *942.15 Acidez Titulable en Frutas | PDF | Ph | Titration*. <https://es.scribd.com/document/497230112/942-15-Acidez-Titulable-en-Frutas-1>
- AOAC 932.12. (2017). *Aoac 982.12 17 Edição | PDF | Distillation | Water*. <https://es.scribd.com/document/557923103/Aoac-982-12-17%C2%AA-Edicao>
- Arana, V. A., Medina, J., Alarcon, R., Moreno, E., Heintz, L., Schäfer, H., & Wist, J. (2015). Coffee's country of origin determined by NMR: The Colombian case. *Food Chemistry*, 175, 500–506. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.160>

- Avellaneda, E. (2023, May 15). *Proceso de Fabricación de Azúcar Blanco* | PDF | *Cocina, comidas y vino* | *Ciencia y matemáticas*. <https://es.scribd.com/document/645487490/Proceso-de-Fabricacion-de-Azucar-Blanco>
- Bacca, N. A. J., Vásquez García, A., Rodríguez, I., & España Muñoz, J. (2025). potencial de los compuestos bioactivos de residuos de frutas y verduras en la industria alimentaria: Una revisión. *Revista de Ciencias*, 27(2), 14046. <https://doi.org/10.25100/RC.V27I2.14046>
- Barre, F., & Barre, J. (2022). *Efecto de la fertilización de las variedades de café ecorobusta, napopayamino y conilón (coffea canephora) en la etapa de producción* (p. 28). Ecuador : La Mana : Universidad Técnica de Cotopaxi (UTC). <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/8564>
- Camacho, C. J., CASTAÑEDA, G. L. D., MONGUI-GUTIERREZ, D., MARTIN-RAMIREZ, A., OROZCO, A. M. E., CASTILLO CHIQUIZA, J. S., VALENCIA HUERAS, L., CUESTA VALENCIA, J. F., AVELLANEDA MARTÍNEZ, J. S., GUTIÉRREZ BURGOS, C. A., MARTIN RAMÍREZ, P. A., RINCÓN GONZÁLEZ, C. A., ROMERO BERNAL, P. S., CAMACHO-CRUZ, J., CASTAÑEDA-GUTIÉRREZ, L. D., MONGUI-GUTIERREZ, D., MARTIN-RAMIREZ, A., OROZCO, A. M. E., CASTILLO CHIQUIZA, J. S., ... ROMERO BERNAL, P. S. (2022). Probióticos: una mirada al mecanismo de acción y aplicaciones clínicas en Pediatría. *Revista Salud Uninorte*, 38(3), 891–918. <https://doi.org/10.14482/SUN.38.3.618.92>
- Çevik, T., Aydoğdu, N. S., Özdemir, N., & Kök Taş, T. (2019). The Effect of Different Sugars on Water Kefir Grains. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 7, 40–45. <https://doi.org/10.24925/TURJAF.V7ISP1.40-45.2687>

- Coronado H., M., Vega Y León, S., Gutiérrez T., R., Marcela, V. F., & Radilla V., C. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista Chilena de Nutrición*, 42(2), 206–212. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182015000200014>
- Cruz, C. C. I., Zelaya Molina, L. X., Sandoval Cancino, G., Santos Villalobos, S. de los, Rojas Anaya, E., Chávez Díaz, I. F., Ruíz Ramírez, S., Cruz-Cárdenas, C. I., Zelaya Molina, L. X., Sandoval Cancino, G., Santos Villalobos, S. de los, Rojas Anaya, E., Chávez Díaz, I. F., & Ruíz Ramírez, S. (2021). Utilización de microorganismos para una agricultura sostenible en México: consideraciones y retos. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 12(5), 899–913. <https://doi.org/10.29312/REMEXCA.V12I5.2905>
- Dalmau, J. (2024, July 9). *Todo sobre las bebidas fermentadas | Mūn Kombucha*. <https://munkombucha.com/blogs/todas/todo-sobre-las-bebidas-fermentadas?srsId=AfmBOop6W5dTKxLmWmz8O-lhyUBKksebvd-WGRA6E58vvgkqVagYh3Q1>
- Danovaro, R., Dell’Anno, A., Pusceddu, A., Gambi, C., Heiner, I., & Møbjerg Kristensen, R. (2026). *Fermentación y respiración anaeróbica (artículo) | Khan Academy*. <https://es.khanacademy.org/science/ap-biology/cellular-energetics/cellular-respiration-ap/a/fermentation-and-anaerobic-respiration>
- Dari, D. N., da Silva, L. F., Júnior, A. M. B. L., Freitas, I. S., da Silva Aires, F. I., & dos Santos, J. C. S. (2025). Spent coffee grounds: Insights and future prospects for bioenergy and circular economy applications. *Green Technologies and Sustainability*, 3(4), 100213. <https://doi.org/10.1016/J.GRETS.2025.100213>

- Deleg, J., & Mora, D. (2023, March 16). *Desarrollo de un patrón secundario en base de arroz para el análisis proximal*. <https://dspace-test.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/41507/1/Trabajo-de-Titulaci%C3%B3n.pdf>
- Demarchi, D. O. C., Nunes Da Cruz, A., Sampaio, E., Koutsodontis, C., César, C., Fernanda, E., Caron, F., Martins, O. A., Possebon, F. S., & Pereira, J. G. (2025). Kefir: a comprehensive overview of microbiological, physicochemical, and health-promoting properties. *Food Science and Technology*, *45*, 2025. <https://doi.org/10.5327/FST.00420>
- Doran, P. M. (1998). *Principios de ingeniería de los bioprocesos*. 468. https://www.editorialacribia.com/libro/principios-de-ingenieria-de-los-bioprocesos_53656/
- Esquivel, P., & Jiménez, V. M. (2012). Functional properties of coffee and coffee by-products. *Food Research International*, *46*(2), 488–495. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.05.028>
- Evers, J. M., & Hughes, C. G. (2002). ANALYSIS KJELDAHL. *Encyclopedia of Dairy Sciences*, 34–40. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227235-8/00015-8>
- FAO. (2026, February 1). *El estado mundial de la agricultura y la alimentación*. <https://www.fao.org/publications/fao-flagship-publications/the-state-of-food-and-agriculture/es>
- Fiorda, F. A., de Melo Pereira, G. V., Thomaz-Soccol, V., Rakshit, S. K., Pagnoncelli, M. G. B., Vandenberghe, L. P. de S., & Soccol, C. R. (2017). Microbiological, biochemical, and functional aspects of sugary kefir fermentation - A review. *Food Microbiology*, *66*, 86–95. <https://doi.org/10.1016/J.FM.2017.04.004>
- Fiorda, F. A., De Melo Pereira, G. V., Thomaz-Soccol, V., Rakshit, S. K., & Soccol, C. R. (2016). Evaluation of a potentially probiotic non-dairy beverage developed with honey and kefir grains:

Fermentation kinetics and storage study. *Food Science and Technology International*, 22(8), 732–742. <https://doi.org/10.1177/1082013216646491>

Fuentes, B. L., Acevedo Correa, D., Chantré, C. A., & Gelvez Ordoñez, V. M. (2015). ALIMENTOS FUNCIONALES: IMPACTO Y RETOS PARA EL DESARROLLO Y BIENESTAR DE LA SOCIEDAD COLOMBIANA. *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 13(2), 140–149. [https://doi.org/10.18684/BSAA\(13\)140-149](https://doi.org/10.18684/BSAA(13)140-149)

Guamán, M. M. (2022). *ELABORACIÓN DE KÉFIR DE AGUA PROTEINIZADO CON AMARANTO (Amaranthus caudatus L.) Y SABORIZADO CON MELOCOTÓN (Pronus persica)*. Trabajo Experimental. <https://dspace.esPOCH.edu.ec:8080/server/api/core/bitstreams/284f0021-9a2b-4ecc-bf27-8672c2cd30e0/content>

Gulitz, A., Stadie, J., Wenning, M., Ehrmann, M. A., & Vogel, R. F. (2011). The microbial diversity of water kefir. *International Journal of Food Microbiology*, 151(3), 284–288. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.09.016>

Harborne, J. B., & Williams, C. A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55(6), 481–504. [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(00\)00235-1](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(00)00235-1)

Henrique Fonseca Veloso, P., Mendes Soares Araújo, L., & de Andrade Royo, V. (2025). Honey: Chemical Composition and Moisturizing Potential for The Skin – A Review. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 16(3). <https://doi.org/10.26502/ijabpt.202140>

Jadán Sánchez, V. M., Belduma Pizarro, N. A., Elizalde Orellana, M. V., Jadán Sánchez, V. M., Belduma Pizarro, N. A., & Elizalde Orellana, M. V. (2024). Evolución y proyección de la producción agrícola

(Banano y Café) en Ecuador en el periodo 2012-2025. *Revista InveCom*, 4(2).
<https://doi.org/10.5281/ZENODO.10850807>

Janissen, B., & Huynh, T. (2018). Chemical composition and value-adding applications of coffee industry by-products: A review. *Resources, Conservation and Recycling*, 128, 110–117.
<https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2017.10.001>

Karlsen, C. E., Cravino, J. A., Soliven, A., Mahon, P. J., Li, F., & Shalliker, R. A. (2025). Quantification of Caffeine in Energy and Cola Drinks via Rapid High Performance Liquid Chromatography Assays with Ultra Violet Diode Array Detection. *Beverages* 2025, Vol. 11, 11(2).
<https://doi.org/10.3390/BEVERAGES11020039>

Laureys, D., & De Vuyst, L. (2014). Microbial Species Diversity, Community Dynamics, and Metabolite Kinetics of Water Kefir Fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(8), 2564.
<https://doi.org/10.1128/AEM.03978-13>

Laureys, D., & De Vuyst, L. (2017). The water kefir grain inoculum determines the characteristics of the resulting water kefir fermentation process. *Journal of Applied Microbiology*, 122(3), 719–732.
<https://doi.org/10.1111/JAM.13370>

Li, H. Y., Zhou, D. D., Gan, R. Y., Huang, S. Y., Zhao, C. N., Shang, A., Xu, X. Y., & Li, H. Bin. (2021). Effects and mechanisms of probiotics, prebiotics, synbiotics, and postbiotics on metabolic diseases targeting gut microbiota: A narrative review. *Nutrients*, 13(9). <https://doi.org/10.3390/NU13093211>

Lock, S. de U. O. (1994). Investigación fitoquímica : métodos en el estudio de productos naturales. *Investigación Fitoquímica : Métodos En El Estudio de Productos Naturales*.
<https://doi.org/10.18800/9788483909522>

- López, E. (2017, January 20). *Cómo hacer kéfir de leche - Fácil*.
<https://www.mundodeportivo.com/uncomo/comida/receta/como-hacer-kefir-de-leche-23766.html>
- Martínez, G., & López, F. (n.d.). *Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu*.
Apellidos, nombre.
- Meullenet, J. F. (2004). Consumers and texture: Understanding their perceptions and preferences.
Texture in Food, 2, 33–52. <https://doi.org/10.1533/978185538362.1.33>
- Moretti, A. F., Moure, M. C., Quiñoy, F., Esposito, F., Simonelli, N., Medrano, M., & León-Peláez, Á. (2022). Water kefir, a fermented beverage containing probiotic microorganisms: From ancient and artisanal manufacture to industrialized and regulated commercialization. *Future Foods*, 5, 100123.
<https://doi.org/10.1016/J.FUFO.2022.100123>
- Murthy, P. S., & Madhava Naidu, M. (2012). Sustainable management of coffee industry by-products and value addition—A review. *Resources, Conservation and Recycling*, 66, 45–58.
<https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2012.06.005>
- Mussatto, S. I., Machado, E. M. S., Martins, S., & Teixeira, J. A. (2011). Production, Composition, and Application of Coffee and Its Industrial Residues. *Food and Bioprocess Technology*, 4(5), 661–672. <https://doi.org/10.1007/S11947-011-0565-Z>
- NTE INEN 389. (2022). *INEN para PH | PDF | Ph | Química*.
<https://es.scribd.com/document/583741194/INEN-para-pH>
- NTE INEN 1529-5. (2006). *Control Microbiológico de Alimentos NTE INEN 1529-5: Método de Ensayo*
 - *Studocu*. <https://www.studocu.com/ec/document/universidad-tecnica-de-cotopaxi/microbiologia/toaz-analisis-microbilogico-en-alimentos/119399130>

- NTE INEN 1529-10. (2020). *1529-10-1R Mohos y Levaduras Viables PDF | PDF | Concentración | Organismos*. <https://es.scribd.com/document/488093112/1529-10-1R-MOHOS-Y-LEVADURAS-VIABLES-pdf>
- NTE INEN 2395. (2011). *Requisitos para Leches Fermentadas según NTE INEN 2395:2011 - Studocu*. <https://www.studocu.com/ec/document/instituto-superior-tecnologico-vicente-leon/introduccion-a-la-pedagogia/inen-lacteos-fermentados/39157119>
- Nurliyana, M. R., Sahdan, M. Z., Wibowo, K. M., Muslihati, A., Saim, H., Ahmad, S. A., Sari, Y., & Mansor, Z. (2018). The Detection Method of Escherichia coli in Water Resources: A Review. *Journal of Physics: Conference Series*, 995(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/995/1/012065>
- Obregón, M. V., & Elizabeth, G. R. (2022). *Caracterización físico-química y nutricional del kéfir de leche*. <http://repositorio.unne.edu.ar/xmlui/handle/123456789/54777>
- OMS. (2022). Versión resumida de El estado de la seguridad alimentaria y la nutrición en el mundo 2022. *Versión Resumida de El Estado de La Seguridad Alimentaria y La Nutrición En El Mundo 2022*. <https://doi.org/10.4060/CC0640ES>
- Patil, N. D., Bains, A., Goksen, G., Ali, N., Dhull, S. B., Khan, M. R., & Chawla, P. (2025). Effect of solid-state fermentation on kidney bean flour: Functional properties, mineral bioavailability, and product formulation. *Food Chemistry: X*, 27, 102339. <https://doi.org/10.1016/J.FOCHX.2025.102339>
- Penedo, M. (2018). *Caracterización de la biomasa vegetal cascarilla de café*. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-61852018000100013

- Pozo, A., & Castro, N. (2023, February 7). *Análisis sensorial de bebida lacto fermentada saborizada mediante un cultivo de hongos kéfir en Ecuador: Pruebas orientadas al consumidor*. .
<http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/20491/1/T-UCSG-PRE-CEAE-CNI-65.pdf>
- Prada, L. (2023). *Panela: más que energía* | FAO. <https://www.fao.org/family-farming/detail/es/c/1710603/>
- Pua, A., Choo, W. X. D., Goh, R. M. V., Liu, S. Q., Cornuz, M., Ee, K. H., Sun, J., Lassabliere, B., & Yu, B. (2021). A systematic study of key odourants, non-volatile compounds, and antioxidant capacity of cascara (dried *Coffea arabica* pulp). *LWT*, 138.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110630>
- Puerari, C., Magalhães, K. T., & Schwan, R. F. (2012). New cocoa pulp-based kefir beverages: Microbiological, chemical composition and sensory analysis. *Food Research International*, 48(2), 634–640. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2012.06.005>
- R. Paul Singh, D. R. H. (2013). *Introduction to Food Engineering Food Science and Technology*.
https://books.google.com/books/about/Introduction_to_Food_Engineering.html?hl=es&id=jlS3R6yxa-AC
- Ramirez, J. (2012, July). (PDF) *Análisis sensorial: pruebas orientadas al consumidor*.
https://www.researchgate.net/publication/257890512_Analisis_sensorial_pruebas_orientadas_al_consumidor
- Randazzo, W., Corona, O., Guarcello, R., Francesca, N., Germanà, M. A., Erten, H., Moschetti, G., & Settanni, L. (2016). Development of new non-dairy beverages from Mediterranean fruit juices

fermented with water kefir microorganisms. *Food Microbiology*, 54, 40–51.

<https://doi.org/10.1016/J.FM.2015.10.018>

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)

Rodríguez, C.-F. J., Antonio Noriega-Rodríguez, J., Lucero-Acuña, A., Tejeda Mansir Doctor en Biotecnología, A., Politécnico Nacional México, I., & El Estudio De La Bioactividad Multifuncional Del Kéfir, A. E. (2017). AVANCES EN EL ESTUDIO DE LA BIOACTIVIDAD MULTIFUNCIONAL DEL KÉFIR. *Interciencia*, 42(6), 347–354. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2016.00647>

Ruiz, L. (2018, December 26). *INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL*. <https://www.scientific-european-federation-osteopaths.org/wp-content/uploads/2019/01/Investigaci%C3%B3n-experimental.pdf>

Ruiz, S., & Espinosa, H. (2024). Kéfir de agua: Características, producción y fabricación de biopelículas como una alternativa de uso de excedentes. Revisión. Water kefir: Characteristics, production, and manufacturing of biofilms as an alternative use of surplus. Review. *Año*, 2024, 36.

Salazar, A. B. C., Cortés Rodríguez, M., & Montoya Campuzano, O. (2016). Identification of some kefir microorganisms and optimization of their production in sugarcane juice. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 69(2), 7935–7943. <https://doi.org/10.15446/RFNA.V69N2.59138>

Sarzosa Erazo, E. T. (2018). *Análisis de la mejora en la calidad de vida de los habitantes de la vía Latacunga – La Mana, mediante el turismo comunitario de la provincia de Cotopaxi*. <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/15297>

- Teijeiro, M., Abraham, A. G., Cabrera, J., Suchowlanski, G. A., Losada, A., Ruarte, S., López, M., & Vinderola, G. (2025). Análisis de muestras de kéfir de agua para el desarrollo de un marco regulatorio en el Código Alimentario Argentino. *Revista Argentina de Microbiología*, 57(3), 298–303. <https://doi.org/10.1016/J.RAM.2025.02.002>
- Tzavaras, D., Papadelli, M., & Ntaikou, I. (2022). From Milk Kefir to Water Kefir: Assessment of Fermentation Processes, Microbial Changes and Evaluation of the Produced Beverages. *Fermentation* 2022, Vol. 8, 8(3). <https://doi.org/10.3390/FERMENTATION8030135>
- Valle, A., Manrique, L., & Revilla, D. (2022). *La investigación descriptiva con enfoque cualitativo en educación*. <https://repositorio.pucp.edu.pe/index/handle/123456789/184559>
- Vandenberghe, L. P. S., Soccol, C. R., Pandey, A., & Lebeault, J. M. (2000). Solid-state fermentation for the synthesis of citric acid by *Aspergillus niger*. *Bioresource Technology*, 74(2), 175–178. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(99\)00107-8](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(99)00107-8)
- Vargas, S. R., Torrescano-Urrutia, G., Esqueda-Valle, M., Torres-Martínez, B., Sánchez-Escalante, A., Vargas-Sánchez, R., Torrescano-Urrutia, G., Esqueda-Valle, M., Torres-Martínez, B., & Sánchez-Escalante, A. (2022). Fermentación de subproductos agroindustriales como estrategia para obtener aditivos para alimento de codorniz. *Abanico Veterinario*, 12, 1–23. <https://doi.org/10.21929/ABAVET2022.17>
- Varios. (2015, May 1). (PDF) *Los ingenios azucareros en el Ecuador: establecimiento, industrialización, y economía de mercado*. https://www.researchgate.net/publication/355338162_Los_ingenios_azucareros_en_el_Ecuador_establecimiento_industrializacion_y_economia_de_mercado

- Vinocunga, P. D. R., Tamayo, F. M. J., Poma, J. P. P., Sarabia-Guevara, D. A., Yordi, E. G., & Pérez-Martínez, A. (2025). Análisis de la producción y consumo de café en Ecuador. *Agroindustrial Science*, 15(3), 283–293. <https://doi.org/10.17268/agroind.sci.2025.03.09>
- Vitorino, L. C., & Bessa, L. A. (2017). Technological microbiology: Development and applications. *Frontiers in Microbiology*, 8(MAY). <https://doi.org/10.3389/FMICB.2017.00827>
- Yilmaz, E. L., Ozcan, T., & Akpınar-Bayizit, A. (2020). Assessment of socio-demographic factors, health status and the knowledge on probiotic dairy products. *Food Science and Human Wellness*, 9(3), 272–279. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2020.05.004>
- Zajšek, K., & Goršek, A. (2010). Modelling of batch kefir fermentation kinetics for ethanol production by mixed natural microflora. *Food and Bioproducts Processing*, 88(1), 55–60. <https://doi.org/10.1016/J.FBP.2009.09.002>