

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE

ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA

**GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS
ALIMENTOS**



**“FERMENTACIÓN DE BEBIDAS DE QUINOA
SACARIFICADAS CON *Lactobacillus plantarum*”**

TRABAJO FIN DE GRADO

JULIO 2019

AUTORA: CARMEN VIDAL VAÑÓ

TUTORA: ESTEFANIA VALERO CASES

RESUMEN

En la actualidad la población se preocupa más por su salud y por su alimentación, pero las intolerancias y las alergias alimentarias son un inconveniente para la población. Por lo tanto, el desarrollo de bebidas probióticas sin gluten y sin lactosa son un buen potencial. El objetivo principal del trabajo, fue investigar los efectos de la sacarificación de la bebida de quinoa y su suplementación con fruta liofilizada en la viabilidad de *Lactobacillus plantarum* después de la fermentación y durante 28 días de almacenamiento. También se determinaron parámetros fisicoquímicos de las bebidas, polifenoles y capacidad antioxidante. Aunque todas las bebidas desarrolladas fueron un buen sustrato para el microorganismo, los resultados mostraron mayor viabilidad de *Lactobacillus plantarum* cuando a las bebidas de quinoa fermentadas y sacarificadas se les adicionó fruta liofilizada al mismo tiempo que presentaron elevadas concentraciones de polifenoles.

PALABRAS CLAVE: probiótico, capacidad antioxidante, polifenoles, pseudocereales, fruta liofilizada.

SUMMARY Currently the population is more concerned about their health and their food, but intolerances and food allergies are an inconvenience for the population. Therefore, the development of probiotic beverages without gluten and without lactose are a good potential. The main objective of the work was to investigate the effects of saccharification of the quinoa drink and its supplementation with lyophilized fruit on the viability of *Lactobacillus plantarum* after fermentation and during 28 days of storage. Physicochemical parameters of beverages, polyphenols and antioxidant capacity were also determined. Although all the quinoa beverages developed were a good substrate for the microorganism, the results showed greater viability of *Lactobacillus plantarum* when fermented and saccharified quinoa beverages were added lyophilized fruit at the same time that they had high concentrations of polyphenols.

KEYWORDS: probiotic, antioxidant capacity, polyphenols, pseudocereals, lyophilized fruit.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	7
1.1 CARACTERÍSTICAS DE LA QUINOA.....	7
1.2 FERMENTACIÓN LÁCTICA.....	8
1.3 PROBIÓTICOS.....	9
1. OBJETIVOS.....	11
1.1. OBJETIVO GENERAL.....	11
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	11
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	12
3.1 RESUSPENSIÓN DEL MICROORGANISMO.....	12
3.2 PROCESO DE SACARIFICACIÓN DE LA QUINOA.....	12
3.3 ELABORACION DE BEBIDAS DE QUINOA SACARIFICADAS CON EXTRACTOS DE FRUTA.....	13
3.4 FERMENTACIÓN DE LAS DIFERENTES BEBIDAS DE QUINOA.....	14
3.5 VIABILIDAD DEL <i>LACTOBACILLUS PLANTARUM</i>	15
3.6 MOHOSY LEVADURAS.....	15
3.7 PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS.....	15
3.7.1 °BRIX.....	15
3.7.2 pH Y ACIDEZ.....	15
3.7.3 COLOR.....	15
3.8 PREPARACIÓN DE EXTRACTOS.....	16

3.9 DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS Y AZÚCARES.....	16
3.10 POLIFENOLES.....	17
3.11 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE.....	17
3.11.1 DPPH.....	17
3.11.2 FRAP.....	17
3.11.3 ABTS.....	17
3.12 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	18
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	19
4.1 PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS.....	19
4.2 VIABILIDAD DE <i>LACTOBACILLUS PLANTARUM</i>	24
4.3 DETERMINACIÓN DE AZÚCARES Y ÁCIDOS.....	25
4.4 POLIFENOLES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE.....	28
4. CONCLUSIÓN.....	29
5. BIBLIOGRAFÍA.....	30

1.INTRODUCCIÓN

Numerosos estudios muestran que dietas ricas en vegetales, frutas y cereales están asociados con una disminución del riesgo en la aparición de enfermedades como cáncer, enfermedades cardiovasculares, diabetes, hipertensión anemia, dislipidemia y obesidad (Al-Dhaheri et al., 2017; Ayyash, Al-Nuaimi, Al-Mahadin, Y Liu, 2018;Gómez-Caravaca et al., 2014; Nowak, Du Y Charrondière, 2016) (Rimm et al., 1996;Steinmetz & Potter, 1996). Por ello en la actualidad está muy en auge la demanda de pseudocereales en la alimentación, no solo por las numerosas propiedades beneficiosas que presentan, sino que también pueden ser consumidos por personas que presentan ciertas intolerancias, como por ejemplo intolerancia al gluten. Los pseudocereales son plantas de hoja ancha, cultivadas como productoras de granos que contienen almidón y que son adecuados para la alimentación humana. Reciben este nombre por los usos y propiedades que presentan similares a los cereales, a pesar de no ser familia de estos. Entre los pseudocereales más destacados se encuentra la quinoa (*Chenopodium quinoa*), chía (*Salvia hispánica*), amaranto (*Amaranthus spp*), lino (*Linum usitatissimum*)... (Kalinová et al., 2019; Wu et al., 2016).

Alguna de las diferencias que presentan los pseudocereales respecto de los cereales son: son altos niveles de proteínas vegetales y un alto contenido en lisina, hierro, aminoácidos esenciales, elevado contenido en fibra, alto contenido en ácidos grasos monoinsaturados (AGM) y ácidos grasos poliinsaturados (AGP) omega 3 y omega 6 (Tabla 1). Este tipo de grasas nos van a ayudar contra el llamado colesterol “malo” o LDL, esto también es beneficioso para la hipertensión, la obesidad y las enfermedades cardiovasculares.

Tabla 1. Comparación nutricional de cereales, pseudocereales y cereales menores

GRANO EN CRUDO		Energía	Proteínas	Lisina	Grasas	AGS	AGM	AGP	Omega 6	Omega 3	AGP+AGM /AGS	HC	Fibra	Calcio	Hierro	Magnesio	Zinc	Selenio	Riboflavina	Niacina	Folato
		Kcal	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg
Cereales menores	Mijo	378	11,02	0,212	4,22	0,723	0,773	2,134	2,015	0,118	4,02075	72,85	8,55	8	3,01	114	1,68	2,7	0,29	4,72	85
	Sorgo	329	10,62	0,229	3,46	0,61	0,008	1,558	1,493	0,065	2,56721	72,09	6,7	13	3,36	165	1,67	12,2	0,096	3,688	20
	Teff	367	13,3	0,376	2,38	0,449	0,589	1,071	0,936	0,135	3,6971	73,13	8	180	7,63	184	3,63	4,4	0,27	3,363	-
Pseudocereales	Amaranto	371	13,56	0,747	7,02	1,459	1,685	2,778	2,736	0,042	3,05894	65,25	6,7	159	7,61	248	2,87	18,7	0,2	0,923	82
	Trigo Sarraceno	343	13,25	0,672	3,4	0,741	1,04	1,039	0,961	0,078	2,80567	71,5	10	18	2,2	231	2,4	8,3	0,425	7,02	30
	Quinoa	368	14,12	0,766	6,07	0,706	1,613	3,292	2,977	0,26	6,94759	64,16	7	47	4,57	197	3,1	2,033	0,318	1,52	184
Cereales	Maiz	365	9,42	0,265	4,74	0,667	1,251	2,163	2,097	0,065	5,11844	74,26	7,3	7	2,71	127	2,21	15,5	0,201	3,627	19
	Arroz Blanco	370	6,81	0,246	0,55	0,111	0,2	0,198	0,189	0,008	3,58559	81,68	2,8	11	1,6	23	1,2	15,1	0,055	2,145	7
	Arroz integral	362	7,5	0,286	2,68	0,536	0,971	0,959	0,918	0,041	3,60075	76,17	3,4	33	1,8	143	2,02	-	0,043	4,308	20

1.1 CARACTERÍSTICAS DE LA QUINOA,

La quinoa (*Chenopodium quinoa*) pertenece a la subfamilia Chenopodioideae, procedente de la familia Amaranthaceae, en la antigüedad fue el cultivo por excelencia en las civilizaciones prehispánicas, su plantación se realizaba en los Andes (América del Sur). En la actualidad los principales países productores son Perú, Bolivia y Ecuador (FAOALADI, 2014). Además este pseudocereal presenta una gran variabilidad genética, haciendo posible su desarrollo y crecimiento en condiciones ambientales adversas. El color de sus semillas puede variar de negro a blanco, pasando por el rojo (Abugoch, 2009; Repo-Carrasco-Valencia Y Serna, 2011; Aguilar Y Jacobsen, 2003; Jacobsen, 2003) (Figura 1). Debido a su contenido en aminoácidos y a la cantidad y calidad de proteínas vegetales que presentan, la quinoa tiene una gran relevancia a nivel nutricional. Además también presenta gran capacidad antioxidante, ácidos grasos esenciales como omega-3 y omega-6, y minerales como hierro, calcio, folatos... (Vega Gálvez, Miranda, Vergara, Uribe, Puente y Martínez, 2010). Estudios previos se ha observado que el consumo de quinoa presenta un efecto positivo en los niveles de colesterol, LDL y triglicéridos, y que además ayuda en el tratamiento y prevención de las enfermedades cardiovasculares. Por lo tanto es un pseudocereal que puede ser consumido por toda la población, incluso podría tener efectos beneficiosos para grupos de población en riesgo, como: personas mayores, niños, celíacos, personas con osteoporosis, dislipemia, diabetes, anemia y obesidad (Sezgin C. A. y Sanlier, N. 2019).



FIGURA 1. *Planta de quinoa y semillas.*

1.2. FERMENTACIÓN LÁCTICA

Los cereales son un buen sustrato para la fermentación tradicional de alimentos llegando a formar parte de la dieta de muchas culturas, como por ejemplo el Sur de América, Asia y África, sin embargo, el principal problema que estos presentan es que la mayoría contiene gluten, y no pueden ser consumidos por ciertos sectores de la población, como personas con intolerancia al gluten. Por lo tanto, una buena alternativa sería la fermentación a base de pseudocereales (Maisa de Lima Correia Silva, et al., 2015).

La fermentación láctica es, en un proceso anaeróbico realizado por las células. Se basa principalmente en la degradación de la glucosa para la obtención de energía donde el producto final es el ácido láctico, este proceso es realizado por bacterias, denominadas bacterias ácido lácticas. La glucosa mediante glucólisis va a formar piruvato, este en presencia de oxígeno irá al ciclo de Krebs, sin embargo las células anaerobias van a conducir el piruvato por otra ruta diferente, a esta ruta se le denomina fermentación láctica, y se produce en ausencia de oxígeno, y tiene como producto final ácido láctico (Figura 2)-En la actualidad la fermentación de los alimentos no es un proceso económicamente costoso de llevar a cabo (Ferri, Serrazanetti, Tassoni, Baldissarri, Y gianotti, 2015). Al mismo tiempo, la fermentación puede ir acompañada de una sacarificación para acelerar el proceso y mejorar el producto puesto que la mayor disponibilidad de azúcares, mejorarían los procesos de fermentación, llegando a incrementar el número de bacterias probióticas en alimentos fermentados.

La sacarificación es un proceso mediante el cual se produce una hidrólisis de polisacáridos como son las celulosas y las hemicelulosas en azúcares fermentables y puede ser de dos tipos: ácida o enzimática (Balat et al., 2008; Sánchez, 2008)

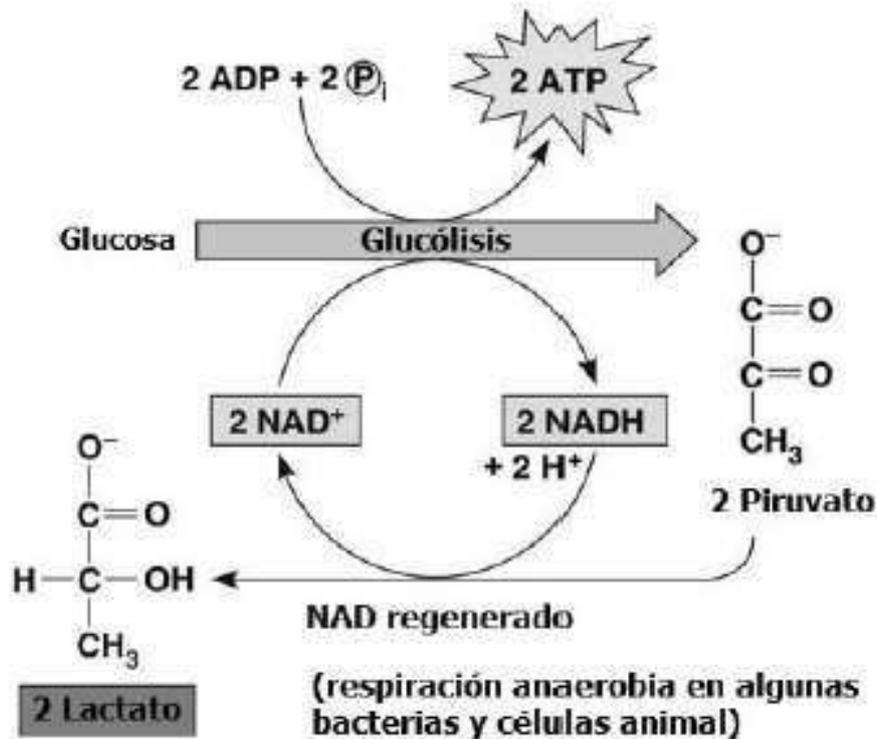


FIGURA.2 Ruta metabólica de la fermentación ácido láctica para la producción de ácido láctico (Anderson, 2011)

1.3 PROBIÓTICOS

Dentro de las bacterias lácticas, se encuentran algunas bacterias conocidas como probióticos son microorganismos vivos que, al ser administrados en cantidades adecuadas, confieren un beneficio saludable al hospedador (definición obtenida de International Scientific association of Probiotics and Prebiotics) (Hill C. et al., 2014). Los microorganismos considerados probióticos son principalmente los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, siendo el *Lactobaccillus* el prevalente en el intestino de los humanos (Gibson Y Roberfroid, 1995).

Dentro del género *Lactobacillus*, destaca *Lactobacillus plantarum* es una bacteria ácido láctica, que es capaz de sintetizar y metabolizar bacteriocinas, éstas presentan un gran efecto inhibitorio en el crecimiento de bacterias tanto gram negativas como gram positivas. Estas bacteriocinas también hacen que el microorganismo sea resistente en cierta medida al ácido y al calor, por este motivo es uno de los microorganismos más utilizados para alimentos fermentados (Gong et al., 2010; Spano y Massa, 2006).

Por lo tanto, combinar las propiedades que presenta la quinoa (antioxidantes, minerales y fibra) y el aporte de bacteria probióticas en una misma bebida, sería una buena alternativa a los productos lácteos fermentados que actualmente se encuentran en el mercado y no pueden ser consumidos personas con dislipemia, intolerantes a la lactosa o vegetarianos. Al mismo tiempo, al no contener gluten, sería una buena alternativa para las personas celiacas.



2. OBJETIVO GENERAL:

Investigar los efectos de la sacarificación de la bebida de quinoa y su suplementación con fruta liofilizada en la viabilidad de *Lactobacillus plantarum* después de la fermentación y durante 28 días de almacenamiento.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

Determinar las propiedades fisicoquímicas de las diferentes bebidas de quinoa fermentadas.

Determinar los recuentos viables de *Lactobacillus plantarum*.

Investigar las propiedades funcionales de las diferentes bebidas de quinoa fermentadas.



3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. RESUSPENSIÓN DEL MICROORGANISMO

El *Lactobacillus plantarum* CECT 220 (LP), se adquirió liofilizada de la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT, Valencia, España). La activación de LP se llevó a cabo de acuerdo a la metodología de CECT y Valero-Cases y Frutos (2015). El microorganismo se resuspendió en 10 mL de caldo MRS (Man- Caldo-Rogosa-Sharpe) (Oxoid, Madrid, España) durante 24 horas a 37 °C en condiciones aeróbicas para obtener el preinóculo MOD CLIMAS CONTROL CIR (Refrigerated incubator, 2963, España). Pasado el tiempo de incubación, se cogió 1 mL del preinóculo y se inoculó en 100 mL de caldo de MRS, y se incubó a 37 °C durante 24 horas hasta alcanzar 8 Log UFC/mL. Pasadas las 24 horas, el microorganismo se transfirió a crioviales de 5 mL adicionando glicerol (10% v/v) como crioprotector y se almacenaron a -80 °C hasta su uso.

3.2. PROCESO DE SACARIFICACIÓN DE LA QUINOA

La quinoa (*Chenopodium quinoa*), se compró en el mercado local de Orihuela, procedente de Bolivia. De acuerdo a su etiquetado los valores nutricionales aparecen en la Tabla 2 en gramos por 100 gramos de producto:

Tabla 2. Composición nutricional de la quinoa

Quinoa (100g de producto)	
Valor energético KJ/Kcal	1541 KJ/ 365 Kcal
Grasas	4 g
de las cuales saturadas	0,5 g
Hidratos de carbono	70 g
de los cuales azúcares	2 g
Fibra	9 g
Proteínas	13 g
Sal	0,04 g

Para elaborar la bebida en primer lugar se fragmentaron los granos de quinoa en un molinillo de café (Taurus Aromatic. Mod. Aromatic. Ver II. Madrid, España). Hasta alcanzar un tamaño de partícula de 0,981. A continuación se mezclaron las semillas fragmentadas en agua potable siguiendo una proporción 1/10 y se introdujeron en botellas de borosilicato estériles (1 L). Se prepararon cinco muestras para los posteriores análisis.

Posteriormente se pasteurizaron durante 30 minutos a 60 °C (UNITRONIC 6320200). Una vez pasteurizadas, las muestras se atemperaron hasta 37 °C en un baño con hielo. Cuando las

muestras alcanzaron la temperatura de 37 °C, se adicionó α -amilasa (Sigma Aldrich, Madrid España) en un 1% (v/v) para la sacarificación de las muestras, y se incubaron a 37°C durante 24 horas. Pasadas las 24 horas, las muestras se trataron térmicamente a 60 °C durante 30 minutos para inactivar la α -amilasa. Dos de las cinco muestras no fueron sacarificadas, dejándose como control para los posteriores ensayos y análisis.

3.3. ELABORACIÓN DE BEBIDAS DE QUINOA SACARIFICADAS CON EXTRACTOS DE FRUTA

Tras finalizar el proceso de sacarificación dos de las muestras fueron enriquecidas con plátano y mango liofilizado comprados en el mercado central de Orihuela. De acuerdo al etiquetado nutricional las muestras contenían (Tabla 3 y 4):

Tabla 3. *Composición nutricional del mango liofilizado.*

Mango (en 100g de producto)	
Valor energético KJ/Kcal	1504 KJ/ 360 Kcal
Grasas	0,2 g
de las cuales	
saturadas	0,3 g
Hidratos de carbono	77,2 g
de los cuales	
azúcares	75,5 g
Fibra	13,3 g
Proteínas	3,5 g
Sal	0,03 g
Vitamina A	289 μ g
Vitamina C	82 mg

Tabla 4. Composición nutricional del plátano liofilizado

Plátano (en 100g de producto)	
Valor energético KJ/Kcal	1547 KJ/ 370 Kcal
Grasas	1,1 g
de las cuales	
saturadas	0,4 g
Hidratos de carbono	78,7 g
de los cuales	
azúcares	66,5 g
Fibra	13,4 g
Proteínas	4,7 g
Sal	0,01 g
Potasio	1378 mg
Magnesio	149 mg

Los extractos se trituraron hasta alcanzar un tamaño de partícula de 1,961 μ . Estos se adicionaron en una concentración del 10% (p/v). Tras adicionar el extracto, las muestras se filtraron y se pasteurizaron a 60 °C durante 30 minutos. Se descendió la temperatura para adicionar la suspensión del *L. plantarum* previamente preparada en una concentración de 10⁶ células viables / mL; de modo que se obtuvieron las siguientes muestras: bebida de quinoa sin sacarificar ni fermentar, otra sin sacarificar y fermentada, otra sacarificada y fermentada, otra sacarificada, fermentada con plátano y la última sacarificada, fermentada con mango.

A continuación se realizaron diluciones 1/10 de cada una de las muestras. Posteriormente se sometió a pasteurización. Seguidamente se pusieron las muestras en hielo para que se atemperase a 37°C.

3.4. FERMENTACIÓN DE LAS DIFERENTES BEBIDAS DE QUINOA

Una vez que se elaboraron las bebidas, se inoculó a cada una de ellas *L. plantarum* previamente preparado en un concentración de 6 Log UFC/mL, dejando una muestra sin fermentar como control. Tras la inoculación, las muestras se incubaron a 37 ° C durante 24 h para dar lugar a la fermentación.

Pasadas las 24 horas de fermentación se obtuvieron las siguientes muestras: bebida de quinoa sin sacarificar ni fermentar (CONTROL), bebida de quinoa sin sacarificar y fermentada (BQSS), bebida de quinoa sacarificada y fermentada (BQSF), bebida de quinoa y plátano fermentada (BQSP) y bebida de quinoa con mango sacarificada y fermentada (BQSM).

3.5. VIABILIDAD DE *L. PLANTARUM*

La viabilidad de *L. plantarum* después de haber realizado la fermentación y durante los 28 días de almacenamiento se determinó mediante diluciones seriadas agua de peptona estéril. En placas de MRS agar se sembró por triplicado en condiciones aeróbicas a 37 °C durante 48 h. Los resultados fueron expresados mediante el Log UFC/mL de bebida de quinoa. La viabilidad del *L. plantarum* se midió a los 0, 7, 14, 21 y 28 días de almacenamiento.

3.6. MOHOS Y LEVADURAS.

Para determinar la calidad de las diferentes bebidas se realizó recuentos de mohos y levaduras. Se determinaron utilizando placas de recuento de levaduras y mohos Petrifilm™ (3 M; Madrid, España), a tiempo 0 horas, 24 horas, 7 días, 14 días, 21 días y 28 días. Una vez sembradas, se dejaron en incubar a 37° C durante 48 horas.

3.7. PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS (°BRIX, pH, ACIDEZ Y COLOR)

3.7.1. ° Brix

Los °Brix, se determinaron por triplicado con un refractómetro (mod. HI 96801 Hanna Instruments) a tiempo 0 horas, 24 horas, 7, 14, 21 y 28 días de almacenamiento refrigerado a 4 °C.

3.7.2. pH y acidez

El pH y la acidez, se determinaron de manera simultánea con un titrador automático, (Crisón pH meter 2001 mod. 507. Barcelona, España). Las determinaciones se realizaron por triplicado. Y los resultados para la acidez se expresaron como % de ácido láctico según la siguiente ecuación:

$$\text{Ecuación (1) \% Ácido láctico} = \frac{\text{Volumen de NaOH gastado} \cdot \text{Normalidad} \cdot \text{Pmeq de ácido láctico}}{\text{Volumen de la muestra}} \cdot 100$$

3.7.4. Color.

Este parámetro se midió con un colorímetro CR 300 (Minolta Camera Co., Osaka, Japón), con un adaptador para líquidos. Estos parámetros fueron determinados por el método CIELAB ($L^*/a^*/b^*/C/h^\circ$ y ΔE). Siendo L^* la luminosidad ($+L^*$ blanco, $-L^*$ negro), a^* las coordenadas que van de verde a rojo ($-a^*$ verde, $+a^*$ rojo), y b^* las coordenadas que van de azul a amarillo ($-b^*$ azul, $+b^*$ amarillo) Escribano Josefa, et al., (2017). La determinación de este parámetro se realizó a tiempo 0, 1, 7, 14, 21 y 28 días de almacenamiento.

3.8. PREPARACIÓN DE EXTRACTOS

Para la preparación de extractos para la posterior medición de polifenoles y capacidad antioxidante, se realizó una extracción con metanol. Para ello se realizó una dilución 1:10 (bebida:metanol). Las muestras se agitaron en un agitador magnético (OVAN MMH30 E) a 1300 rpm durante 7 minutos. Posteriormente, se centrifugaron a 1500 rpm durante 5 minutos, y se extrajo el sobrenadante de cada una de las muestras y se mantuvieron a $-80\text{ }^\circ\text{C}$ hasta determinar su contenido en capacidad antioxidante y polifenoles.

De la misma manera, se prepararon los extractos para la determinación de ácidos y azúcares, pero en lugar de metanol utilizamos agua ultrapura en una proporción 1:2 (bebida: agua ultrapura).

3.9. DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS Y AZÚCARES

Los azúcares y los ácidos orgánicos de nuestra bebida se midieron mediante cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), mediante el instrumento Hewlett- Packard HPLC serie 1100 (Woldbronn, Alemania), este está equipado con una columna Supelcoguard C-610H (5cm x 4.6 mm), una columna precolumna C-610H (30 cm x 7.8 mm) (Supelco, Sigma; Madrid España). Para medir los ácidos se utilizó un diodo de luz ultra violeta visible (UVVis-), se monitorizan a 210 nm (DAD G1315A), mientras que para los azúcares y la inulina el índice de refracción utilizado fue RID G1362A. La fase móvil fue ácido ortofosfórico a una concentración del 0.1%, el volumen de inyección fue de $20\mu\text{L}$ con un caudal de $0,5\text{ mL}/\text{min}$ en condiciones isocráticas. Mediante curvas de calibración, se pudo identificar y cuantificar los azúcares (glucosa, fructosa y sacarosa), los ácidos orgánicos (ácido málico, láctico cítrico y oxálico) y la inulina (Sigma-Aldrich; Madrid, España). Los resultados fueron expresados en $\text{mg}/100\text{ mL}$.

3.10. POLIFENOLES.

Los polifenoles fueron medidos por el método de Folin-Ciocalteu. Se comenzó preparando el reactivo de Folin, el cual se añadió 2,5 mL en cada tubo de ensayo, a continuación se adicionó 250 μ L de las distintas muestras y se completó el volumen hasta 500 μ L con tampón fosfato. A continuación, las muestras se agitaron y se dejaron reposar durante 2 minutos. Una vez transcurrió esos dos minutos, se adicionó 2 mL de Na_2CO_2 , los tubos de ensayo se colocaron en el baño maría a 50 °C durante 10 minutos (mod. UNITRONIC OR J.P. SELECTA, España). Posteriormente, las muestras se midieron en un espectrofotómetro UV/ VIS (SPECTROMETER T80, Singapur) a 760 nm en un espectrofotómetro. Los resultados se calcularon de acuerdo a la curva patrón, $y = 131,97x - 0,0126$ ($R^2 = 0,9972$), y se expresaron en mg / 100 mL.

3.11. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

3.11.1. DPPH

El método 2,2diphenyl-1picrylhydrazyl radical (DPPH) se llevó a cabo según el método Brand-Williams et al.1995. Brevemente, se preparó el reactivo DPPH, se mantuvo 30 minutos en oscuridad, una vez transcurrido este tiempo se ajustó la absorbancia a 1 con metanol).

A continuación en cubetas de espectrofotometría de 1,5 mL, se adicionó 10 μ L de la muestra, 40 μ L de metanol y 950 μ L de DPPH. Se agitaron las muestras y se midió absorbancia a 515nm. Para la curva patrón, se utilizó 10 μ L de Trolox, 950 μ L de DPPH y 40 μ L de metanol, Los resultados se calcularon de acuerdo a la siguiente curva patrón, $y = 1,0404x + 0,0531$ ($R^2 = 0,9875$) y se expresaron en mg / 100 mL.

3.11.2. FRAP

El método de potencia férrica antioxidante reductora (FRAP) se realizó siguiendo el método de Benzie y Strain1996. Se preparó una solución buffer a un pH de 3.6, a continuación se preparó el HCl a 40mM, el reactivo 2,4,6-tris (2- piridil)-s-triazina (TPTZ) y el cloruro de hierro a 20 mM. Todos los reactivos se mezclaron en una relación 1:1:10 (TPTZ: FeCl_3 : Buffer).

A continuación se procedió al llenado de cubetas con 10 μ L de trolox para realizar la recta patrón y con 10 μ L de los diferentes extractos previamente preparados y se adicionó 990 μ L del reactivo FRAP. Las cubetas se mantuvieron 10 minutos en oscuridad y se midió la capacidad antioxidante a 593nm. Los resultados fueron calculados mediante la siguiente curva patrón, $y = 0,0813x - 0,0947$ ($R^2 = 0,9762$) y se expresaron en mg / 100 mL.

3.11.3 ABTS

El método ABTS + [2,20-azino-bis (3-ácido etilbenzotiazolina-6-sulfónico)] desarrollado por Re et al.1999, brevemente, se preparó el reactivo ABTS y se mezcló con K₂S₂O₈. Se dejó reaccionar durante 16 horas en oscuridad. Pasado este tiempo, se diluyó con PBS a un pH de 7.4, después se ajustó absorbancia a 0,7. Para medir la capacidad antioxidante por ABTS de nuestras muestras, se cogieron 990 μ L del reactivo ABTS y 10 μ L de cada uno de los extractos, se dejó en oscuridad 10 minutos y se midió absorbancia a 734 nm. Los resultados calculados se calcularon de acuerdo a la siguiente curva patrón, $y = 0,1158x - 0,1604$ ($R^2 = 0,9505$) y se expresaron en mg / 100 mL.

3.12. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Todos los análisis se realizaron por triplicado, Los resultados se expresaron como media \pm desviación estándar. La comparación y evolución se realizó mediante un análisis de varianza (ANOVA), y seguidamente se realizó una prueba de rango múltiple de Duncan para saber las diferencias significativas existentes en nuestras muestras ($p < 0,05$). Para realizar este análisis se utilizó el paquete de software SPSS y 21.0 (SPSS Inc. Chicago-Illinois-USA).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS.

La figura 3 muestra la variación del pH a lo largo del tiempo de almacenamiento en las diferentes bebidas de quinoa fermentadas con *L. plantarum*.

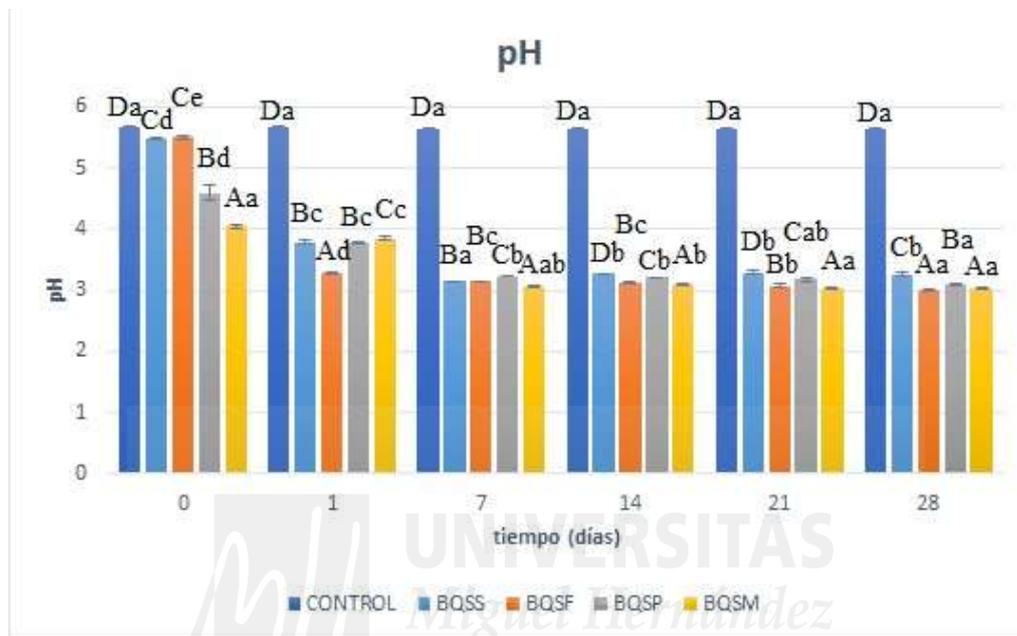


FIGURA. 3. pH de bebidas fermentadas de quinoa a lo largo del tiempo de almacenamiento, siendo el control la muestra sin sacarificar y sin fermentar, BQSS la muestra sin sacarificar y fermentada BQSF la muestra sacarificada y fermentada; BQSP, la muestra sacarificada, fermentada y con plátano liofilizado; y BQSM siendo la muestra sacarificada, fermentada y con mango liofilizado. Se representa la media \pm la desviación estándar, siendo las letras minúsculas las que muestran diferencias significativas en ($p < 0.05$) en cuanto a la evolución y las letras mayúsculas las que muestran diferencias significativas en ($p < 0.05$) en comparación.

Los resultados mostraron una disminución de pH a medida que avanzó el tiempo de almacenamiento, a excepción de la muestra control, que los valores permanecieron sin cambios significativos puesto que no se fermentó con *L. plantarum*. Al mismo tiempo, también se pudo observar, que la muestra con el pH inicial más alto fue la BQSF presentando un pH de 5.5, y además fue la una de las que mayor disminución de pH presentaron a lo largo del almacenamiento, puesto que desde el tiempo 0 hasta los 28 días de almacenamiento presentaron

una reducción de pH del 55%, seguida de la muestra BQSS que presenta una disminución del 40% siendo la que mayor disminución de pH presentó la muestra BQSF mientras que las muestras BQSP y BQSM presentaron una disminución del pH del 30 y 25% respectivamente. Al final del periodo de almacenamiento (día 28), la muestra BQSS presentó el valor de pH más elevado (3,26) respecto a los pH más bajos (3,0 y 3,1) que se encontraron en las muestras BQSM y BQSF. Esto se puede deber a que debido a los azúcares presentes en nuestras muestras, se va a producir glucólisis, es decir se va a oxidar la glucosa para producir ácidos, el pirúvico principalmente y posteriormente el ácido láctico (figura 4), además una disminución del pH también va a evitar el crecimiento de microorganismos no deseados, así como son mohos y levaduras. En relación con la reducción de pH de las diferentes muestras fermentadas, se observó ausencia total en el desarrollo de mohos y levaduras durante todo el periodo de almacenamiento, por lo que esto indicó que las muestras no habían sido contaminadas y presentaban una buena vida útil durante 28 días de almacenamiento refrigerado (Tao et al., 2000; Shirai et al., 2001). Al mismo tiempo que disminuyó el pH de las muestras fermentadas también se observó una reducción en los sólidos solubles totales, debido a la fermentación láctica realizada por LP y un aumento de la acidez titulable, debido a la producción de ácido láctico generado.

Esta producción de ácido láctico se puede observar en la figura 4, ya que hace referencia al porcentaje de ácido láctico presente en las distintas muestras a lo largo del tiempo de almacenamiento. De manera general, se pudo observar que no hay diferencias significativas en cuanto al contenido de ácido láctico en las diferentes muestras a lo largo del almacenamiento. A pesar de que se observó una disminución del pH y una disminución de los sólidos solubles, no presentaron un aumento del ácido láctico, pues el porcentaje de ácido láctico de las diferentes bebidas de quinoa no presentaron variaciones significativas a lo largo del tiempo de almacenamiento. Este hecho podría ser debido a que el microorganismo siguió metabolizando los azúcares en mínima cantidad permaneciendo en fase estacionaria su crecimiento. (Xu et al., 2008).

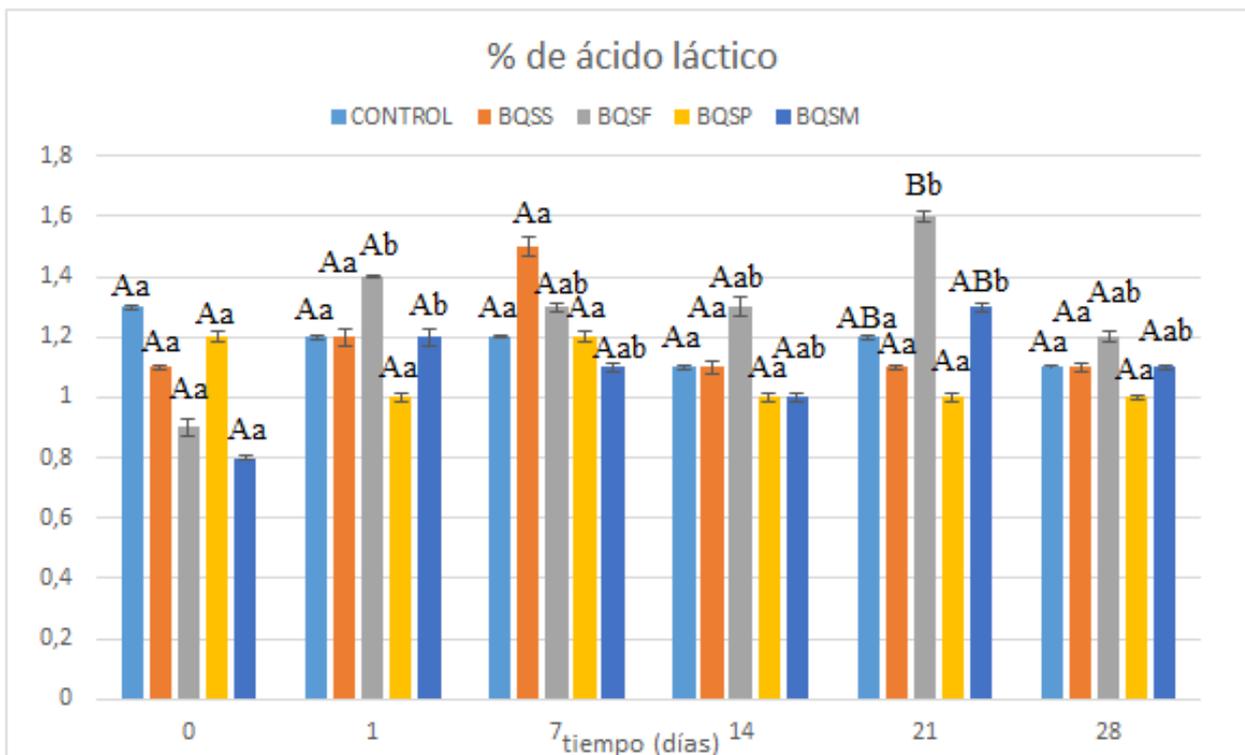


FIGURA. 4. % de ácido láctico de bebidas fermentadas de quinoa a lo largo del tiempo de almacenamiento, siendo el control la muestra sin sacarificar y sin fermentar, BQSS la muestra sin sacarificar y fermentada; BQSF la muestra sacarificada y fermentada; BQSP, la muestra sacarificada, fermentada y con plátano liofilizado; y BQSM siendo la muestra sacarificada, fermentada y con mango liofilizado. Se representa la media \pm la desviación estándar, siendo las letras minúsculas las que muestran diferencias significativas en ($p < 0.05$) en cuanto a la evolución y las letras mayúsculas las que muestran diferencias significativas en ($p < 0.05$) en comparación

La figura 5 muestra la variación de los °Brix con el tiempo de almacenamiento. Las muestras BQSP y BQSM presentaron mayor contenido en °Brix (de 1,1 a 0,8 y de 1,37 a 1,33, respectivamente), debido a la presencia de fruta liofilizada que contenían estas muestras respecto de las otras fermentadas en ausencia de fruta liofilizada esto presentaba una relación con la disminución del pH, puesto que en las muestras con fruta liofilizada la disminución del pH fue menor. La presencia de fruta aumentó los azúcares en la bebida y por lo tanto esto provocó que los sólidos solubles fueran superiores al resto de muestras (Megías-Perez et al., 2012) Al mismo tiempo, estas muestras (BQSP y BQSM) presentaron menor disminución de sólidos solubles que el resto de muestras fermentadas a lo largo del periodo de almacenamiento. La muestra con mango (BQSM) a lo largo del tiempo de almacenamiento disminuyó un 3%, y

la de plátano un 25%, mientras que las muestras sin fruta liofilizada, BQSS y BQSF presentaron una mayor disminución de °Brix un (36% y 44%, respectivamente).

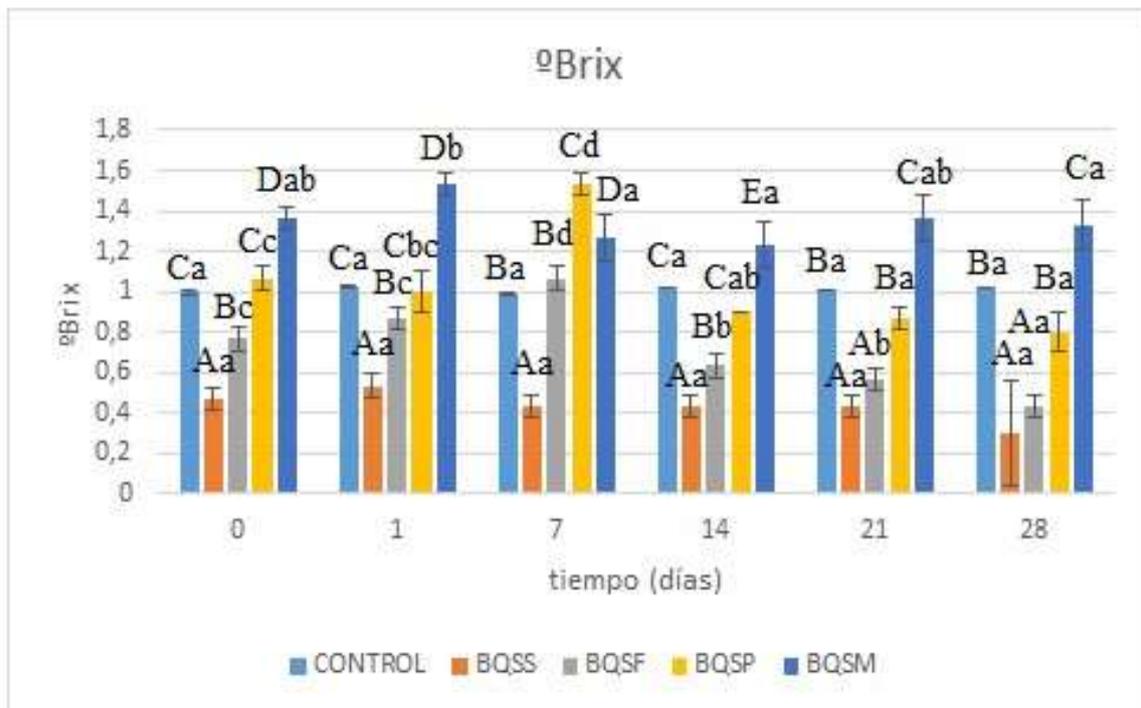


FIGURA. 5. °Brix de bebidas fermentadas de quinoa a lo largo del tiempo de almacenamiento, siendo el control la muestra sin sacarificar y sin fermentar, BQSS la muestra sin sacarificar y fermentada; BQSF la muestra sacarificada y fermentada; BQSP, la muestra sacarificada, fermentada y con plátano liofilizado; y BQSM siendo la muestra sacarificada, fermentada y con mango liofilizado. Se representa la media \pm la desviación estándar, siendo las letras minúsculas las que muestran diferencias significativas en ($p < 0.05$) en cuanto a la evolución y las letras mayúsculas las que muestran diferencias significativas en ($p < 0.05$) en comparación

4.1.1 COLOR

La tabla 5, presenta la diferencia de color entre las muestras para los distintos tiempos de almacenamiento. Como se puede observar, la muestra BQSF presentaron mayor luminosidad a los 28 días de almacenamiento, es decir esta fue la muestra más clara con respecto a las otras. Además se puede observar que las diferencias fueron significativas para la muestra control y para la muestra BQSM, que presentaron un rango de luminosidad muy similar entre ellas ($96,04 \pm 0,89$) y ($91,69 \pm 0,58$) respectivamente, además se pudo observar que la luminosidad entre el tiempo 0 y a los 28 días de almacenamiento aumentó a excepción de la muestra BQSM que se pudo ver que, a los 0 días de almacenamiento fue algo superior que a los 28 días de almacenamiento habiendo diferencias significativas entre ambos tiempos, a pesar de que estas

diferencias no fueron significativas entre los 0 días de almacenamiento, los 14 y los 21 días de almacenamiento, y que entre 1, 7 y 28 días de almacenamiento las diferencias tampoco fueron significativas.

Respecto a la coordenada a^* se pudo ver que en la muestra control, estos valores no variaron. Los valores más altos de a^* pertenecieron a las muestras BQSF y BQSP, y que además estas dos muestras a lo largo del tiempo de almacenamiento presentaron una mayor disminución de este parámetro, presentando a los 0 días de almacenamiento tonos más rojizos y a los 28 días de almacenamiento tonos más cercanos al color verde,. Además se pudo observar que en la muestra BQSM el parámetro a^* aumentó, a lo largo del almacenamiento partiendo de tonalidades menos rojas al inicio del almacenamiento ($a^* = 0,35 \pm 0,13$) hasta alcanzar tonalidades más rojas al finalizar el almacenamiento a los 28 días ($a^* = 0,77 \pm 0,06$)

El valor de la coordenada b^* ,(tabla 5), se pudo observar que a tiempo 0 el tono que presentaron las muestras fue un tono menos amarillos ($b^* = - 3,72 \pm 0,14$ a $- 1,6 \pm 0,22$), mientras que en los últimos días de almacenamiento este tono fue menos intenso ($b^* = - 3,29$ a $- 0,43$), puesto que este parámetro disminuyó, a excepción de las muestras BQSP y BQSM; puesto que la muestra BQSP, fue de un tono menos amarillo ($-1,61 \pm 0,22$) a un tono más amarillo ($-0,43 \pm 0,12$) y la muestra BQSM fue de un tono amarillento ($1,07 \pm 0,05$) a un tono más amarillento ($2,39 \pm 0,10$) con el paso del tiempo de almacenamiento.

Estas modificaciones del color se deben a la escasa presencia de pigmentos, puesto que un estudio realizado por Escribano Josefa et. al., 2017 con quinoa de distintas variedades demostró que a medida que disminuye el parámetro b^* , y que el valor de a^* aumenta, se reduce la betaxantina, y que con la presencia de betacianinas, el parámetro L^* disminuía.

Tabla 5. Color de las formulaciones de bebida de quinoa a lo largo del tiempo de almacenamiento.

Parámetros	Tiempo	Formulaciones ^b				
		Control	BQSS	BQSF	BQSP	BQSM
L*	0	94,86 ± 0,43 Ba	95,06 ± 0,58Bc	91,95 ± 0,14Aa	95,01 ± 0,69Bb	97,54 ± 0,99Cb
	1	94,66 ± 0,57 Ba	92,82 ± 0,78ABb	94,37 ± 0,80Bb	92,39 ± 0,49Aa	92,10 ± 1,22Aa
	7	94,55 ± 0,69 Ba	97,12 ± 0,12Bd	94,37 ± 0,19Bc	96,57 ± 0,23Bc	93,36 ± 2,67Aa
	14	95,77 ± 0,58 Ba	98,13 ± 0,19Cd	92,54 ± 0,35Aa	103,1 ± 0,20Dd	95,96 ± 0,08Bb
	21	95,86 ± 0,73 Ca	88,11 ± 1,48A	91,49 ± 1,16Ba	91,61 ± 0,73Ba	95,75 ± 0,28Cb
	28	96,04 ± 0,89 Ba	103,34 ± 0,38Ce	103,93 ± 0,22Cd	103,21 ± 0,21Cd	91,69 ± 0,58Aa
a*	0	0,96 ± 0,08 Ba	0,99 ± 0,09Bd	1,45 ± 0,20Cd	1,02 ± 0,30Be	0,35 ± 0,13Ab
	1	0,95 ± 0,43 Ba	0,89 ± 0,18Bcd	0,25 ± 0,18Ab	0,80 ± 0,08Bed	0,28 ± 0,27Ab
	7	0,96 ± 0,56 Ba	0,18 ± 0,08Ab	0,65 ± 0,06Bc	0,11 ± 0,12Ac	0,19 ± 0,02Aab
	14	0,94 ± 0,46 Ca	0,01 ± 0,03Bb	0,78 ± 0,11Cc	-1,27 ± 0,03Ab	-0,01 ± 0,10Ba
	21	0,92 ± 0,35 Ca	0,71 ± 0,07Cc	0,40 ± 0,10Bb	0,60 ± 0,01Cd	0,16 ± 0,12Aab
	28	0,94 ± 0,59 Ca	-1,8 ± 0,07Ba	-2,17 ± 0,03Aa	-1,82 ± 0,10Ba	0,77 ± 0,06Cc
b*	0	-3,08 ± 0,27Ba	-3,19 ± 0,27Bb	-3,72 ± 0,14Ab	-1,61 ± 0,22Cb	1,07 ± 0,05Dc
	1	-3,39 ± 0,20Ba	-3,78 ± 0,31ABa	-4,61 ± 0,36Aa	-3,50 ± 0,08Ba	-0,94 ± 0,81Ca
	7	-3,47 ± 0,20Ba	1,84 ± 0,06Ce	0,84 ± 0,05Be	-3,50 ± 0,08Ba	-0,07 ± 0,03Ab
	14	-3,36 ± 0,31Ba	2,17 ± 0,06De	0,26 ± 0,07Cd	-1,03 ± 0,05Ac	3,39 ± 0,10Ee
	21	-3,16 ± 0,30Aa	-0,34 ± 0,37Bd	0,20 ± 0,22BCd	0,57 ± 0,18Ce	3,32 ± 0,40De
	28	-3,29 ± 0,31Aa	-0,88 ± 0,34Cc	-1,64 ± 0,18Bc	-0,43 ± 0,12Dd	2,39 ± 0,10Ed

^b: Media ± desviación estándar presentes en la misma columna representadas con letras en mayúscula indican diferencias estadísticas significativas en ($p < 0.05$) para una misma formulación entre los distintos tiempos de almacenamiento. En la misma fila con letras en minúscula se representa las diferencias estadísticas significativas en ($p < 0.05$) para un mismo tiempo de almacenamiento ente las distintas formulaciones, siendo la muestra control la que no sacarificada ni fermentada, la muestra BQSS la no sacarificada pero fermentada, la muestra BQSF la sacarificada y fermentada, la muestra BQSP la sacarificada, fermentada con plátano liofilizado y la muestra BQSM la muestra sacarificada, fermentada con mango liofilizado.

4.2 VIABILIDAD *L. PLANTARUM*

En la figura 6 se puede observar la viabilidad de *L. plantarum* después de 24 horas de fermentación y durante 28 días de almacenamiento refrigerado a 4 °C. A tiempo 0, se pudo comprobar que había viabilidad de *L. plantarum*, pero si se compara con los otros tiempos de almacenamiento, se pudo observar que en este tiempo la viabilidad fue menor, mientras que en el resto de tiempos de almacenamiento la viabilidad fue mayor. Esto se pudo deber a que aún no se había producido la fermentación, por eso se encontró menor crecimiento a tiempo 0 que a 1, 7, 14, 21 y 28 días de fermentación. También se observó que a partir de las 24 horas de almacenamiento hubo crecimiento en todas las muestras fermentadas. Alcanzando la mayor

viabilidad en la muestra BQSPS con valores de 10.47 Log UFC/ mL, A lo largo del tiempo de almacenamiento, se observó que se produjo una disminución de la viabilidad de *L. plantarum* en todas las muestras, pero esta disminución estuvo más presente en las muestras BQSF y BQSP, disminuyendo sus valores en un 16 % ambas muestras .En estudios previos con diferentes muestras fermentadas también encontraron resultados de viabilidad del *L. acidophilus*, esta viabilidad fue similar a las bebidas de quinoa fermentada, en este estudio el sustrato fermentado fue la sacarosa.(Valero Cases et al., 2017).

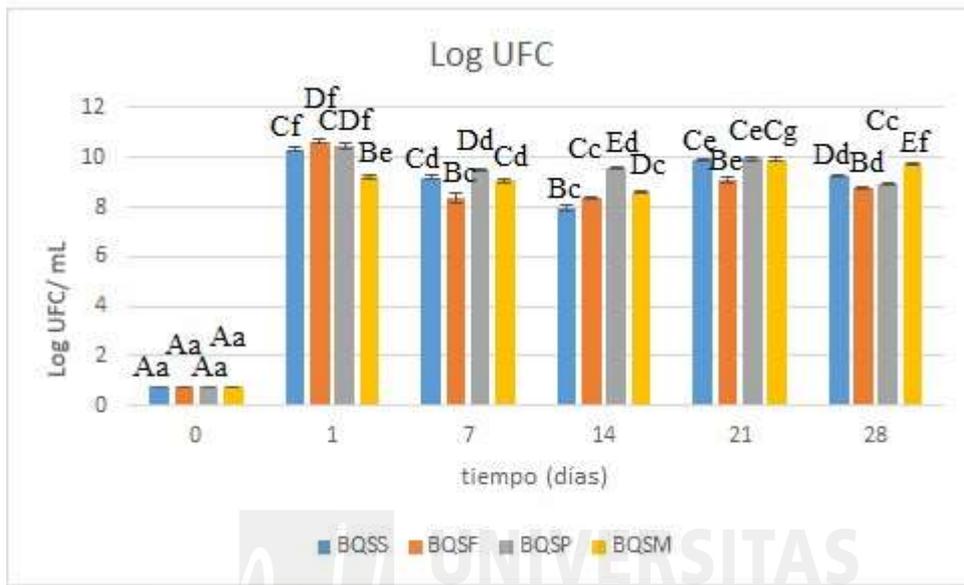


FIGURA. 6. Log UFC/mL de bebidas fermentadas de quinoa a lo largo del tiempo de almacenamiento, siendo el control la muestra sin sacarificar y sin fermentar, BQSS la muestra sin sacarificar y fermentada; BQSF la muestra sacarificada y fermentada; BQSP, la muestra sacarificada, fermentada y con plátano liofilizado; y BQSM siendo la muestra sacarificada, fermentada y con mango liofilizado. Se representa la media \pm la desviación estándar, siendo las letras minúsculas las que muestran diferencias significativas en ($p < 0.05$) en cuanto a la evolución y las letras mayúsculas las que muestran diferencias significativas en ($p < 0.05$) en comparación.

4.4 DETERMINACIÓN DE AZÚCARES Y ÁCIDOS

La figura 7 presenta la concentración de los azúcares presentes en las muestras. Se observó que la mayor concentración de inulina la presentaba la muestra BQSF, además no se encontraron grandes diferencias entre las muestras que contenían fruta liofilizada y las que no. Se observó que la concentración de inulina se mantuvo estable a lo largo del tiempo de almacenamiento. La estabilidad de estos valores, puede ser debida a la predisposición de *L.*

plantarum, por fermentar antes los azúcares disponibles antes que la inulina presente en las muestras de manera natural (Valero-Cases y Frutos 2017; Wheater D.M. 1995).

Con respecto a la sacarosa, se pudo observar que la que mayor concentración presentaba de este azúcar eran los extractos con fruta liofilizada, esto pudo deberse a la concentración de azúcares que presentan estas frutas, ya que el mango liofilizado contiene 24,3 gramos de sacarosa en 100 gramos de producto, y el plátano contiene 15,6 gramos de sacarosa en 100 gramos de producto. Que la sacarosa no disminuyó en los mismos niveles que la glucosa y la fructosa se debe a que *L. plantarum* fermenta antes los monosacáridos, que los disacáridos. Además se pudo observar que las mayores concentraciones de glucosa se encontraron en las muestras con fruta liofilizada, y que estas concentraciones disminuyeron a lo largo del tiempo de almacenamiento, eso sucede debido a la fermentación. También se observó que la única muestra que contenía fructosa era la muestra con mango liofilizado, y que está también disminuyó a lo largo del tiempo de almacenamiento. (Megías-Pérez et al., 2012; Wheater D.M 1995; Rao et al., 2000; Valero Cases E. y Frutos M. J. 2015).



FIGURA. 7. A) Concentración de inulina g/100 mL B) Concentración de sacarosa g/100 mL C) Concentración de glucosa g/100 mL y D) Concentración de fructosa g/100 mL en el almacenamiento de bebidas fermentadas de quinoa a lo largo del tiempo de almacenamiento, siendo el control la muestra sin sacarificar y sin fermentar, BQSS la muestra sin sacarificar y fermentada; BQSF la muestra sacarificada y fermentada; BQSP, la muestra sacarificada, fermentada y con plátano liofilizado; y BQSM siendo la muestra sacarificada, fermentada y con mango liofilizado.

La figura 8 muestra la concentración de ácido láctico a lo largo del tiempo de almacenamiento, se pudo observar que el ácido láctico se mantuvo sin variaciones a lo largo del tiempo de almacenamiento en todas las muestras, esto pudo deberse a que la fermentación se estaba produciendo lentamente, ya que a tiempo 0 no hubo ácido láctico, y a que los azúcares a lo largo del almacenamiento disminuyeron.

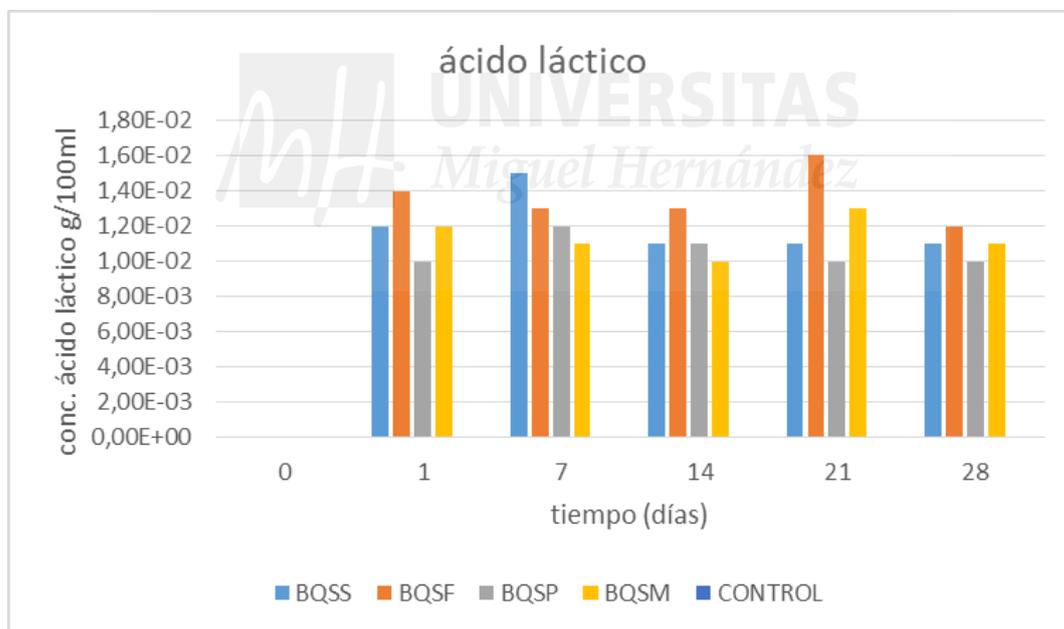


FIGURA. 8. Concentración de ácido láctico g/100 mL de bebidas fermentadas de quinoa a lo largo del tiempo de almacenamiento, siendo el control la muestra sin sacarificar y sin fermentar, BQSS la muestra sin sacarificar y fermentada; BQSF la muestra sacarificada y fermentada; BQSP, la muestra sacarificada, fermentada y con plátano liofilizado; y BQSM siendo la muestra sacarificada, fermentada y con mango liofilizado.

4.5 POLIFENOLES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTES

En la tabla 6, se pudo observar que la mayor concentración de polifenoles estaba presente en las muestras con fruta liofilizada BQSP ($14,43 \pm 4,45$), BQSF ($12,89 \pm 7,06$) y en la muestra BQSM ($10,74 \pm 3,02$) a los 28 días de almacenamiento. Además se observó que las diferencias entre las distintas muestras no fueron significativas a excepción de la muestra con plátano liofilizado que las diferencias para el tiempo 0,1 y 14 días de almacenamiento no fueron significativas, sin embargo para el día 28 de almacenamiento estas diferencias si fueron significativas. Los polifenoles, presentaron potentes beneficios para la salud, incluyendo actividades antioxidantes (Balasundram, Sundaran y Samman, 2006). Hay compuestos fenólicos que incluyeron derivados de antocianidinas, quininas, calconas, flavones, compuestos amino fenólicos... (Masisi Beta y Moghadasian, 2016), aunque estos eran muy abundantes en granos, muchos de ellos se encontraron unidos covalentemente con constituyentes de la pared celular (hemicelulosas), esto pudo llegar a limitar la biodisponibilidad, (Wu, Fang, y Johnson, 2018), por lo que la fermentación ayudó a cubrir los polifenoles libres aumentando su disponibilidad (Dey, Chakraborty, Jain, Sharma, Y Kuhad, 2016).

En cuanto a la capacidad antioxidante por DPPH se pudo observar que hubo una mayor capacidad antioxidante a los 28 días de almacenamiento a excepción de la muestra sin sacarificar pero fermentada, que su mayor capacidad antioxidante la presentó a las 24 horas de almacenamiento ($100,85 \pm 57,55$), por una pequeña diferencia, esta fue no significativa. En cuanto a las muestras BQSF y BQSM, se vio como la capacidad antioxidante fue aumentando con el tiempo de almacenamiento, cosa que no sucedió con la muestra BQSP, pues esta presentó una disminución a las 24 horas y 14 días de fermentación y aumentó a los 28; al realizar una comparación de las muestras, se observó que la muestra control y BQSS no presentó diferencias significativas. Un estudio realizado por Rizzello et al., (2017) atribuyó las actividades antioxidantes en quinoa fermentada durante por *L. plantarum*, a péptidos de cadena corta (<9KDa), péptidos que presentaban un bajo peso molecular y que resultaban de la proteólisis realizada por cromatografía líquida de masas (Samardi i Ismail, 2010).

En cuanto a la capacidad antioxidante medida por ABTS se observó que las menores concentraciones se encontraron a los 28 días de fermentación, mientras que las mayores concentraciones se encontraron en la muestra BQSS ($48,95 \pm 19,68$) y BQSF ($44,86 \pm 11,37$) a los 14 días de almacenamiento, mientras que en las muestras con fruta liofilizada, BQSP Y BQSM la mayor capacidad antioxidante se presentó en el primer día de almacenamiento ($42,04 \pm 7,82$) y ($41,23 \pm 10,49$) respectivamente. Además también se pudo observar como entre las

muestras y en los distintos tiempos no se encontraron diferencias significativas. Este ensayo se basó en la capacidad de los extractos en la reducción de la estabilidad del ABTS en soluciones acuosas (Re et al., 1999).

La capacidad antioxidante medida por FRAP, se vio que a los 28 días de fermentación, las muestras presentaron una menor capacidad antioxidante, a excepción de la muestra BQSM que presenta un valor un poco superior al presentado a tiempo 0. También se pudo ver que a tiempo 0 y a los 14 días de fermentación las diferencias presentadas no fueron significativas. Esto se debió que el método FRAP se basa en la capacidad que presentan los extractos para reducir Fe (III) a Fe (II) como poder antioxidante (Benzie y Strain, 1996.)

Tabla 6. Polifenoles y capacidad antioxidante de las formulaciones de bebida de quinoa a lo largo del tiempo de almacenamiento^a.

Parámetros	Tiempo	Formulaciones ^b				
		Control	BQSS	BQSF	BQSP	BQSM
Polifenoles	0	5,26 ± 1,08 Aa	5,25 ± 2,30 Aab	3,54 ± 0,73 Aa	6,55 ± 3,83 Aa	6,33 ± 3,89 Aab
	1	5,20 ± 2,30 Aa	4,44 ± 0,93 Aa	4,50 ± 1,95 Aa	4,85 ± 0,53 Aa	5,09 ± 0,52 Aa
	14	5,30 ± 1,06 Aa	5,62 ± 2,32 Aa	7,07 ± 5,43 Aa	9,48 ± 5,20 Aab	6,19 ± 1,01 Aab
	28	5,18 ± 1,21 Aa	12,89 ± 7,06 ABb	4,83 ± 0,61 Aa	14,43 ± 4,45 Bb	10,74 ± 3,02 ABb
DPPH	0	80,05 ± 1,90 Aa	79,34 ± 3,68 Aa	81,99 ± 31,99Aa	62,87 ± 19,97 Aa	138,83 ± 30,61Bbc
	1	80,12 ± 0,97 Aa	100,85 ± 57,55 Aba	98,19 ± 18,61Aab	76,41 ± 31,35 Aa	69,24 ± 29,37 Aab
	14	80,25 ± 1,20 ABa	77,48 ± 19,01 ABa	114,92 ± 19,92Bab	85,98 ± 35,98 Ba	38,96 ± 0,80 Aa
	28	80,98 ± 2,00 Aa	100,32 ± 7,85 Aa	96,33 ± 17,75 Aa	96,33 ± 17,75 Aa	157,95 ± 66,09 Ac
ABTS	0	40,89 ± 3,01 Aa	41,75 ± 8,44 Aa	36,91 ± 2,19 Aa	33,69 ± 4,29 Aa	38,35 ± 10,79 Aa
	1	40,55 ± 2,09 Aa	40,66 ± 3,07 Aa	33,06 ± 3,05 Aa	42,04 ± 7,82 Aa	41,23 ± 10,49 Aa
	14	40,68 ± 1,87 Aa	48,95 ± 19,68 Aa	44,86 ± 11,37 Aa	39,33 ± 2,07 Aa	40,71 ± 4,44 Aa
	28	40,35 ± 2,09 Aa	37,43 ± 6,66 Aa	34,32 ± 1,56 Aa	32,31 ± 5,92 Aa	35,88 ± 7,41 Aa
FRAP	0	70,02 ± 3,65 Aa	68,64 ± 14,42 Aab	93,08 ± 28,77 Ab	86,27 ± 26,16 Aa	67,00 ± 6,72 Aa
	1	70,87 ± 2,01 ABa	80,86 ± 3,82 BCb	60,52 ± 11,78 Aab	88,49 ± 11,67 Ca	71,18 ± 1,48 ABa
	14	70,54 ± 1,84 Aa	64,87 ± 5,12 Aab	64,13 ± 17,27 Aab	68,15 ± 2,88 Aa	65,53 ± 8,59 Aa
	28	70,28 ± 2,04 Ca	61,43 ± 5,56 ABa	57,33 ± 1,35Aa	66,35 ± 4,37 Bca	68,91 ± 0,79 Ca

^b: Media ± desviación estándar presentes en la misma columna representadas con letras en mayúscula indican diferencias estadísticas significativas en (p<0.05) para una misma formulación entre los distintos tiempos de almacenamiento. En la misma fila con letras en minúscula se representa las diferencias estadísticas significativas en (p<0.05) para un mismo tiempo de almacenamiento ente las distintas formulaciones, siendo la muestra control la que no sacarificada ni fermentada, la muestra BQSS la no sacarificada pero fermentada, la muestra

BQSF la sacarificada y fermentada, la muestra BQSP la sacarificada, fermentada con plátano liofilizado y la muestra BQSM la muestra sacarificada, fermentada con mango liofilizado.

5. CONCLUSIÓN

Las bebidas de quinoa sacarificadas fueron un buen sustrato para el crecimiento y supervivencia de *L. plantarum* permaneciendo en concentraciones superiores a 6 Log UFC/mL tras 24 horas de fermentación y durante 28 días de almacenamiento refrigerado. Sin embargo, cuando las bebidas de quinoa sacarificadas se suplementaron con plátano liofilizado, *L. plantarum* que presentó mejor viabilidad (≥ 10 Log UFC/mL) después de la fermentación y a lo largo del almacenamiento. Además se pudo observar que la sacarificación no mejoró significativamente la viabilidad de *L. plantarum*, respecto de la muestra sin sacarificar a lo largo del almacenamiento, pero si lo hizo durante el periodo de fermentación. La adición de fruta liofilizada a las bebida de quinoa sacarificadas, presentó una mejora en el contenido de polifenoles en la muestra con plátano liofilizado BQSP ($14,43 \pm 4,45$ mg / 100 mL) y mayor capacidad antioxidante en las en las bebidas de quinoa suplementadas con mango liofilizado (BQSM). Por lo tanto, las bebidas de quinoa sacarificadas pueden ser una buena alternativa a los productos lácteos fermentados que actualmente se encuentran en el mercado y pueden ser consumidos la mayoría de los consumidores al no contener gluten ni lactosa.

6. BIBLIOGRAFÍA

Abugoch, L.E. (2009). Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) composition, chemistry, nutritional, and functional properties. *Advances in Food Y Nutrition Research*, 58, 1-31.

Aguilar, P. C., Y Jacobsen, S.-E. (2003). Cultivation of Quinoa on the Peruvian Altiplano. *Food Reviews International*, 19(1–2), 31–41.

Al-Dhaheeri, A S., Al-Hemeire, R., Kizhakkayil, J., Al-Nabulsi, A., Abushelaibi, A., Shah, N. P., Y Ayysha, M. (2017). Health-promoting benegits of low-gat akawi cheese made by exopolysaccharide-producing probiotic *Lactobacillus plantarum* isolated from camel milk, *Journoal of Dairy Science*, 100 (10), 7771-7779.

Ayyash, M., AL-Nuaimi, A. K., Al-Mahadin, S., Y Liu, S. –Q. (2018b). In vitro investigation of anticancer and ace-inhibiting activity, α -amylase and α -glucosidase inhibition, and antioxidant activity of camel milk fermented with camel milk probiotic: A comparative study with fermented bobine milk. *Food Chemistry*, 239, 588-597

Balasundram, N., Sundram, K., Y Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1), 191-203. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.042>

Balat, M.; Balat, H.; Cahide, Ö. 2008. Progress in bioethanol processing. *Progress in Energy and Combustion Science*, 34: 551-573.

Benzie, I. F. F.; Strain, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Anal. Biochem.* 1996, 239, 70–76.

Brand-Williams, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *J. Food Sci. Technol.* 1995, 28, 25–30.

Ceyhun-Sezgin, A., Seren-Karakus, S., Y Shanher, N. (2015). Turk mutfaginda yer alan zeytinyagh sebze yemeklerinden ormekler. *Akademik Sosyal Arashrmalar Dergisi*, 3(13), 229-239.

Dey, T. B., Chakraborty, S., Jain, K. K., Sjarma, A., Y Kuhad, R. C. (2016). Antioxidant phenolics ant their microbial production by submerged and solid state fermentation process: A review. *Trends in Food Science Y Technology*, 53, 60-74

Escribano J., Cabanes J., Jiménez-Atiénzar M., Ibañez-Tremolada M., Gómez-pando L. R., García-Carmona F., y Gandía-Herrero F. (2017). Characterization of betalains, saponins and antioxidant power in differently colored quinoa (*Chenopodium quinoa*) varieties. *Food Chemistry* 23 (4), 285-294 <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.187>

FAO-ALADI (2014). Tendencias y perspectivas del comercio internacional de quinua. FAOALADI joint report. ISBN 978-92-5-308135-6.

Farnsworth JP, Li J, Hendricks GM, Guo MR. Effects of transglutaminase treatment on functional properties and probiotic culture survivability of goat milk yogurt. *Small Ruminant Research*. 2006; 65: 113-121.

Ferri, M., Serrazanetti, D.I., Tassoni, A., Baldissari, M., Y Gianotti, A. (2016). Improving the functional and sensorial profile of cereal-based fermented foods by selecting *Lactobacillus plantarum* strains via a metabolomics approach. *Food Research International*, 89, 1095-1105. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.08.044>.

Gibson, G. R., & Roberfroid, M. B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *The Journal of Nutrition*, 125(6), 1401e1412.

Gómez-Caravaca, A. m., Iafelice, G., Verardo, V., Marconi, E., Y Caboni, M.F. (2014). Influence of pearling process on phenolic and saponin content in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd), *Food Chemistry*, 157, 174-178.

Gong, H. S., X. C. Meng, and H. Wang. 2010. Plantaricin MG active against Gram-negative bacteria produced by *Lactobacillus plantarum* KLDS1.0391 isolated from “Jiaoke”, a traditional fermented cream from China. *Food Control* 21:89–96

Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, Morelli L, Canani RB, Flint HJ, Salminen S, Calder PC, Sanders ME. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2014;11:506---14.

Kalinová, J.P., Vrchotová, N., Tříška, J., 2019. Phenolics levels in different parts of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) achenes. *J. Cereal Science*. 85, 243–248.

Maisa L. C. S., Patricia G- L. S., Renata M., Olga M. S. A. Tânia B. M. Mauro B. M. (2015). Effects of soy beverage and soy-based formula on growth, wight, and fecal moisture: experimental study in rats. *Jornal de Pediatria*, 93 (3), 306-312.

Masisi, K., Beta, T., Y Moghadasian, M.H. (2016). Antioxidant properties of diverse cereal grains; a review on in vitro and in vivo studies. *Food Chemistry*, 196 (Supple. C), 90-97. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.021>.

Megías-Pérez R, Gamboa- Santos J., Soria AC., Montilla a. y Villamiel, M (2012). Evaluación de la calidad en frutas deshidratadas comerciales comunes y exóticas.

Nowak, V., Du, J., Y Charrondièrre, U. R. (2016) Assesment of the nutritional composition of quinoa (*Chenopodium quinoa Willd.*). *Food Chemistry*, 193, 57-54 Journal

Rao, M.S., Muñoz, J., & Stevens, W.F. (2000). Critical factors in chitin production by fermentation of shrimp biowaste. *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol. 54, No. 6, pp. 808-813.

Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol. Med.* 1999, 26, 1231– 1237.

Repo-Carrasco-Valencia, R., Y Serna, I., A. (2011). Quinoa (*Chenopodium quinoa Willd.*) as a source of dietary fiber and other functional components. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 31 (1), 225-230.

Rimm, E. B., Ascherio, A., Grovannucci, E., Spiegelman, D., Stampfer, M. J., & Willett, W. C. (1996). Vegetable, fruit and cereal fiber intake and risk of coronary heart disease among men. *Journal of the American Medical Association*, 275, 447–451.

Rizzello, C. G., Lorusso, A., Russo, V., Pinto, D., Marzani, B., Y Gobbetti, M. (2017). Improving the antioxidant properties of quinoa flour through fermentation with selected autochthonous lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 241, 252-261. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.10.035>.

Sanz Cantalapiedra R. (2017). Valoración de los pseudocereales y cereales menores en la mejora de la calidad nutricional de la dieta sin gluten (trabajo de fin de grado). Facultad de medicina, Universidad de Valladolid.

Sarmadi, B. H., Y Ismail, A. (2010). Antioxidative peptides from food proteins: A review, *Peptides*, 31(10), 1949-1956. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2010.06.020>.

Sezgin A. C. Y Sanlier N (2019). A new generation plant for the conventional cuisine: Quinoa (*Chenopodium quinoa Willd.*). *Trends in Food Science Y Technology*, 86, 51-58.

Shirai, K., Huerta, S., Saucedo, G., Rodríguez, G., & Hall, G.M. (1997). Aspects in protein breakdown during the lactic acid fermentation. En: Domard, A., Roberts, G.A.F., & Varum, K.M. (Eds.). *Advances in chitin science*, vol. II (pp. 56-63). Lyon, France: Jaques Andre Publisher.

Spano, G., and S. Massa. 2006. Environmental stress response in wine lactic acid bacteria: beyond *Bacillus subtilis*. *Crit. Rev. Microbiol.* 32:77.

Steinmetz, K. A., & Potter, J. D. (1996). Vegetables, fruits and cáncer prevention: a review. *Journal of American Diet Association*, 96, 1027–1039.

Valero-Cases E., y Frutos M. J. (2017). Development of prebiotic nectars and juices as potential substrates for *Lactobacillus acidophilus*: Special reference to physicochemical characterization and consumer acceptability during storage. *Food Science and Technology* 81 (3), 136-143. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2017.03.047>

Valero-Cases, E., & Frutos, M. J. (2015). Effect of different types of encapsulation on the survival of *Lactobacillus plantarum* during storage with inulin and in vitro digestion. *LWT - Food Science and Technology*, 64(2), 824e828. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.06.049>.

Vega-Gálvez, A., Miranda, M. Vergara, J., Uribe, E., Puente, L., Y Martínez, E. A. (2010). Nutrition facts and functional potential of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), an ancient andean grain: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(15), 2541-2547.

Wu, K., Gan, R.Y., Dai, S.H., Cai, Y.Z., Corke, H., Zhu, F., 2016. Buckwheat and millet affect thermal, rheological, and gelling properties of wheat flour. *J. Food Sci.* 81,627–636. <https://doi:10.1111/1750-3841.13240>.

Xu, Y., Gallert, C., & Winter, J. (2008). Chitin purification from shrimp wastes by microbial deproteination and decalcification. *Apply Microbiology and Biotechnology*, Vol. 79, No. 4, pp. 687-697.